VERGLEICHENDE AKTIVITÄTSBESTIMMUNGEN VON ENZYMEN DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS IM NIERENGEWEBE UND SERUM GESUNDER RATTEN SOWIE BEI RATTEN MIT EXPERIMENTELL ERZEUGTEN INFIZIERTEN HARNSTAUUNGSNIEREN

Johanna Schroeder-Hänel

1963

AUS DER UROLOGISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: weiland Professor Dr. F. MAY

VERGLEICHENDE AKTIVITÄTSBESTIMMUNGEN VON ENZYMEN DES ENERGIELIEFERNDEN STOFFWECHSELS IM NIERENGEWEBE UND SERUM GESUNDER RATTEN SOWIE BEI RATTEN MIT EXPERIMENTELL ERZEUGTEN INFIZIERTEN HARNSTAUUNGSNIEREN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Johanna Schroeder-Hänel

aus Landsberg O. S.

München 1967

LEIDIG-DRUCK, 8000 München - 25, Schöttlstraße 9, Tel. 77 26 33

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Priv.-Doz. Dr. Dr. E. Matouschek
Korreferent: Professor Dr. F. May
Dekan: Professor Dr. M. Kiese
Tag der mündlichen Prüfung: 10. 1. 1967

INHALT

		Seite
I	EINLEITUNG	5
II	METHODIK	8
	1) Versuchstiere	8
	2) Herstellung einer Suspension von Escherichia Coli in physiol. Kochsalzlösung	8
	3) Eingriffe am Tier	8
	4) Herstellung der mikroskopischen Präparate	9
	5) Gewinnung von Serum	10
	6) Herstellung von Homogenat	10
	7) Bestimmungen in Homogenat und Serum	10
	8) Die einzelnen Enzymteste im Homogenat	12
	9) Die einzelnen Enzymteste im Serum	18
III	ERGEBNISSE	25
	1) Makroskopischer Befund	25
	2) Mikroskopischer Befund	25
	3) Befund der bakteriologischen Untersuchung	25
	4) Angaben über die Enzymmessungen	26
	5) Enzymaktivität im Serum der gesunden Ratte	26
	6) Enzymaktivitäten im Serum von Ratten mit infizierter Harnstauungsniere	27
	7) Enzymaktivitäten im Nierenhomogenat der gesunden Ratte	27
	8) Enzymaktivitäten im Nierenhomogenat der Ratte bei infizierter Harnstauungsniere	27
IV	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	38
	1) Die infizierte Harnstauungsniere bei der Ratte	38
	2) Untersuchungen im Serum und Nierenhomogenat	39
	Besprechung der einzelnen Enzymaktivitäten a- o	42
V	ZUSAMMENFASSUNG	53
VI	LITERATURVERZEICHNIS	55

I. EINLEITUNG

Ausgangspunkt für zahlreiche Untersuchungen über Veränderungen des Enzymgehalts in Geweben und Serum war die Feststellung WARBURGs (1943), daß nicht nur Enzyme sekretorischer Drüsen, sondern auch Enzyme, die zur Grundausrüstung aller Zellen des Organismus gehören, unter pathologischen Bedingungen vermehrt in den Körperflüssigkeiten nachweisbar sind. Voraussetzung zur Beurteilung der im Serum auftretenden Enzyme ist die Kenntnis der Enzym-Muster einzelner Gewebe. Bei den teilweise beträchtlichen Unterschieden der Enzym-Muster der einzelnen Organe war zu erwarten, daß sich diese Unterschiede auch im Serum wiederfinden, wenn es bei einer Organschädigung zu einer Störung der Abdichtung der Zellen und zu einem Austritt von Enzymen in den extrazellulären Raum, in das Serum kommt (SCHMIDT 1961).

Auf der Suche nach den Ursachen, welche den Einstrom von Enzymprotein in das Serum bei so verschiedenartigen Erkrankungen wie Hepatitis, Herzinfarkt, Muskeldystrophie oder perniciöser Anämie zur Folge haben, wurden Modellversuche durchgeführt, deren Ergebnisse auf die zentrale Bedeutung des Energiestoffwechsels hinweisen. BRUNs und Mitarbeiter (1961) weisen auf Grund ihrer Untersuchungen darauf hin, daß wie für jedes geschlossene System auch für die Einzelzelle, das Entropiegesetz gilt, demzufolge die Zelle ohne Energiezufuhr zugrunde geht. Sie benötigt freie Energie nicht nur für die Ausbildung ihrer spezifischen Strukturen während der Zellentwicklung, sondern auch zu ihrer Erhaltung. Die Lokalisation bestimmter Enzyme im löslichen Raum oder an den Strukturelementen der Zelle kann nur unter Energieaufwand geschaffen und durch fortwährende Zufuhr freier Energie gehalten werden.
Es ist also nicht möglich, das Ungleichgewicht, welches hinsichtlich der Fermentkonzentration zwischen enzymreichen Organzellen und dem wesentlich enzymärmeren extrazellulären Raum besteht, unabhängig von der Energetik aufrecht zu erhalten. Wird durch eine äußere Ursache der Energiestoffwechsel gehemmt, so ist ein Enzymverlust, der gemäß dem Konzentrationsgradienten in den extrazellulären Raum erfolgt, zu erwarten. Die Wahrung der Zellintegrität wäre demzufolge untrennbar mit dem Energiestoffwechsel verknüpft.

In die gleiche Richtung deuten Befunde von WARBURG in seinen Untersuchungen über den Stoffwechsel der Ascites Tumorzellen und auch von SCHMIDT und Mitarbeiter (1958), die bei Hepatitis Aktivitätsänderungen glykolytischer Enzyme fanden, wodurch eine Verminderung der Energieproduktion mit ihrer Auswirkung auf die Zellpermeabilität - Strukturen sind energiebedürftig - durchaus denkbar erscheint.

Daß Enzyme schon bei geringen Störungen des Energieaufkommens aus der Zelle entweichen, beweisen z. B. Enzymanstiege nach halbstündiger Stauung des Armes

oder nach schwerer Muskelarbeit (SCHMIDT und SCHMIDT 1959, OTTO, SCHMIDT und SCHMIDT 1964).

Die Ursachen der Aktivitätsänderungen über das physiologische Ausmaß hinaus sind von zahlreichen Autoren diskutiert worden.

Von HAUSS und LEPPELMANN (1957) wird sie als Ausdruck des "akuten Syndroms" im Rahmen der vegetativen Gesamtumschaltung nach HOFF interpretiert. Danach seien die Enzymschwankungen im Serum bei den verschiedensten Krankheitszuständen als völlig unspezifisch und in der gleichen Weise wie etwa der Anstieg der Leukozyten, Temperatur usw. zu beurteilen.

Diese Vorstellung wird durch die Untersuchungen von BAIER und MÜHLER 1959 widerlegt. Auf Grund der in der Literatur diskutierten Ursachen ist die Erhöhung der Serumenzyme unter dem Einfluß verschiedenartiger Noxen auf einen Komplex mehrerer Faktoren zurückzuführen, von denen jeweils einige stärker oder schwächer bestimmend sein können. Dazu gehören: Zellnekrosen mit Zerstörung der Struktur, Änderung der Membranpermeabilität, Unterschiede im Permeationsmechanismus, in der strukturellen Bindung der Enzyme, in der Syntheserate, in der Aktivierung oder Inaktivierung eines Enzyms bzw. dessen Vorstufen in der Zelle oder im Blut und schließlich Unterschiede in der Eliminationsgeschwindigkeit der Enzyme aus dem Blut. (AMELUNG et al. 1958, HESS 1958, SCHMIDT et al. 1960, BRUNS et al. 1961).

Untersuchungen über Enzymaktivitäten im Serum und Nierengewebe wurden bei Nephritiden durchgeführt. WEST und ZIMMERMANN (1958) berichten über die Konzentrationen von GOT und LDH[+)] im Serum. FRANZ und RICHTERICH (1961) untersuchten die Aktivitäten der Enzyme ALD, LDH, MDH und ICDH in der Nierenrinde und in den Glomerula bei der Masugi-Nephritis. NAGANO et al. (1963) teilen ihre Befunde über die Enzymaktivität der Niere bei akuter experimenteller Hypokaliämie mit . DUBACH und RECANT (1962), GERLACH und SCHÜRMEYER (1959) untersuchten einige Enzyme in der Niere bei Nephrosen.

In der uns zugänglichen Literatur findet sich kein Hinweis auf Untersuchungen von Enzymaktivitäten im Serum und Nierengewebe bei infizierter Harnstauungsniere.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Enzymmuster im Nierengewebe und Serum von Ratten bei infizierter Harnstauungsniere.

[+)] Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Abkürzungen werden auf Seite 24 erklärt.

Neben den Enzymen der Des- und Transaminierung (GSDH; GOT; GPT) sowie des Citratcyclus (ICDH; MDH) wurden auch jene untersucht, die an der Verwertung der Kohlenhydrate bzw. ihrer Metabolite beteiligt sind (HK; ALD; GDH; GAPDH; PGK; ENO; PK; LDH; ADH; PFA; SODH; G-6-PDH; 6-PGDH)

Im Tierexperiment wurde ein Krankheitsbild hervorgerufen, das dem der akuten Pyelonephritis beim Menschen zu gleichen scheint. In der vorliegenden Arbeit wird dieses Krankheitsbild als infizierte Harnstauungsniere bezeichnet, weil für das Entstehen des Krankheitsbildes im Tierexperiment ein Druckanstieg im Nierenbecken Voraussetzung für eine Entzündung des Nierenparenchyms durch Escherichia coli zu sein scheint.

Die akute Pyelonephritis tritt sehr häufig einseitig auf. Die Niere ist durch das durch die Entzündung hervorgerufene Ödem gering vergrößert. In schweren Fällen kommt es zur Absceßbildung unterhalb der Kapsel. An Stelle einer Pyurie wird auffällig häufig eine Hämaturie beobachtet. Zylinder sind nur vereinzelt auffindbar. Bakteriologisch werden am häufigsten Coli, seltener Staphylokokken gefunden. Die Proteinurie ist gering, der Blutdruck in der Regel nicht erhöht.

Der genaue Infektionsweg bei der Pyelonephritis ist noch nicht bekannt. SARRE (1958) hält die Infektion über direkte Lymphverbindungen vom Darm zur Niere trotz gelegentlicher gelungener Demonstrationen nicht für überzeugend. Nach seinen Untersuchungsergebnissen spielen auch der vermutete Infektionsweg Darm - Blutbahn - Niere oder der Infektionsweg von den unteren zu den oberen Harnwegen über die Lymphgefäße keine Rolle. Nach den bisher vorliegenden experimentellen Ergebnissen wird der Ausbreitungsweg der Infektion von der Urethra (Schmierinfektion) über Blase, Lymphgefäße - Blutbahn für den wahrscheinlichsten gehalten. Der direkte Weg der Infektion von der Blase zur Niere kommt nur bei Störungen der Blasen- und Ureterinnervation in Betracht sowie bei distalen Abflußhindernissen mit vesico- uretralem Reflux.

Die Pyonephrose entsteht als Folge einer mechanischen oder dynamischen Entleerungsstörung bei gleichzeitiger Infektion. Das Organ ist im allgemeinen vergrößert, das Hohlraumsystem ist plump deformiert, die Nierenbecken zeigen zum Teil unscharfe Begrenzung, gelegentlich stellen sich größere Zerfallshöhlen dar. Das Parenchym ist druckatrophisch.

Das Organ zeigt eine heftige Druckschmerzhaftigkeit, es besteht Pyurie und Leukozytose.

II. METHODIK

1) Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 4 Monate alte männliche Albinoratten (Sprague-Dawly). Das Gewicht dieser Tiere schwankte zwischen 200 und 250 g. Sie wurden mit Spezialtrockenfutter Altromin ernährt und erhielten Wasser ad libitum.

2) Herstellung einer Suspension von Escherichia-Coli in physiologischer Kochsalzlösung

Die zum Entstehen der experimentellen infizierten Harnstauungsniere bei Ratten verwendeten Keime (Escherichia coli) wurden aus dem Urin eines an Pyelonephritis erkrankten Patienten isoliert[+]. Die Coli-Suspension wurde durch Abschwemmen von 24 Stunden bei 37° bebrüteten Schrägagarkulturen gewonnen. Die Suspension enthielt 400 - 800 Millionen Keime pro ml.

Nachträglich wurde die Keimzahl durch Kolonienzählung auf Gußagarplatten kontrolliert. Die Platten wurden mit Verdünnungen der Coli - Suspension beimpft und vor der Zählung 24 Stunden bei 37° bebrütet. Die Keimzahl wurde durch Mittelwertbildung festgestellt.

3) Eingriffe am Tier

In flacher Äthernarkose wurde nach Anlegen eines Rippenbogenrandschnittes die Niere aus dem Fettgewebe luxiert und der linke Ureter mit Catgut unterbunden. Die Operation dauerte im Mittel 4 Minuten.
Anschließend wurden 0,5 ml (400 - 800 Millionen Keime pro ml) der unter Nr 2) beschriebenen Coli-Suspension in die Schwanzvene der Versuchstiere injiziert.

Unmittelbar nach Beendigung des Eingriffes erwachten die Ratten aus der Narkose.

96 - 168 Stunden nach dem operativen Eingriff wurden die Versuchstiere in flacher Äthernarkose durch Eröffnung der Herzspitze entblutet. Die Nieren wurden sofort entnommen mit Filterpapier getrocknet, in eisgekühlte Schalen gelegt, gewogen und halbiert.

[+] Die Keime wurden dankenswerterweise von Herrn Professor Dr. Liebermeister, Direktor des Bakteriologischen Institutes des Krankenhauses Rechts der Isar in München, zur Verfügung gestellt.

4) Herstellung der mikroskopischen Präparate

a) Fixierung

Die Hälfte der Niere der Versuchstiere wurde in 4 % Formol 48 Stunden fixiert.

b) Einbettung

Das formolfixierte Präparat muß vor der Weiterbehandlung unter fließendem Brunnenwasser ca. 10 Minuten lang, bis kein Formolgeruch mehr vorhanden ist, gewässert werden.

Das vorbehandelte Nierengewebe wird dann in folgender Reihe entwässert:

In 70 % Alkohol	I. Portion	3 Stunden lang
" " "	II. "	3 " "
" 80 % "		1 " "
" 96 % "	I. "	2 " "
" " "	II. "	1 1/2 " "
" Abs. "	I. "	1 " "
" " "	II. "	1/2 " "
" " "	III. "	1 " "
" Xylol	I. "	1 " "
" "	II. "	1 " "

Dann erfolgt die eigentliche Einbettung:

Die Präparate kommen für 6 Stunden in weiches Paraffin (Schmelzpunkt 48 - 50°) und für 3 Stunden in hartes Paraffin (Schmelzpunkt 56 - 58°) in den Brutschrank.

Paraffinblöckeschneiden:

Nachdem die Blöcke mit dem alten Paraffin (Schmelzpunkt 56 - 58°), dem geringe Mengen Bienenwachs beigemengt sind, in Schälchen ausgegossen und erstarrt sind, werden sie zurechtgeschnitten und auf Hölzchen "aufgeblockt" und dann mit dem Schnittmikrotom geschnitten. Dicke der Schnitte 7 - 10 µ. Die Schnitte werden auf mit Eiweißglycerin bestrichene Objektträger aufgezogen.

Anschließend kommen sie bei 40° in den Brutschrank.

c) Färbung

Der Paraffinschnitt muß nun die absteigende Alkoholreihe durchlaufen.

Xylol I	2 Minuten
" II	2 Minuten
Abs. Alk.	2 Minuten
96 % Alk.	2 Minuten
80 % Alk.	2 Minuten
70 % Alk.	2 Minuten

2 Minuten lang kommt das Präparat in aqua dest. In Hämalaun je nach Reife der Lösung 2 - 8 Minuten lang. (Hämalaun nach Pauly Mayer)

Danach wird das Präparat 10 Minuten lang unter fließendem Brunnenwasser gewässert. Anschließend kommt es für 10 Minuten in Erythrosinlösung (Handelspräparat).

Danach wird die aufsteigende Alkoholreihe je 2 Minuten durchlaufen.

80%iger
96%iger
absoluter Alkohol
Xylol

Abschließend erfolgt das Eindecken des Schnittes mit Eukitt.

5) Gewinnung von Serum

Die Tiere wurden in flacher Äthernarkose durch Eröffnen der Herzspitze entblutet. Das so gewonnene Blut wurde ins Eisbad gestellt und sofort zentrifugiert. Der klare Überstand, das Serum, wurde in ein vorgekühltes Glas dekantiert. Durchschnittlich wurden 4 ccm Serum gewonnen.

Während der Messungen wurde das Serum, das immer am gleichen Tag verarbeitet wurde, im Eisbad gehalten.

6) Herstellung von Homogenat

Von den in Äthernarkose getöteten Versuchstieren wurden die Nieren sofort entnommen, mit Filterpapier getrocknet, in eisgekühlte Schalen gelegt, gewogen und halbiert. Es wurde darauf geachtet, daß die Organprobe, bestehend aus Nierenrinde und Nierenmark, aus dem gleichen Abschnitt der Niere entnommen wurde.

Die Organproben wurden mit dem zehnfachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung im Eisbad in Glashomogenisatoren homogenisiert.

Die Homogenate wurden in Kunststoffzentrifugenröhrchen bei 0^{o} C während 20 Minuten und 15000 Umdrehungen pro Minute in der Kühlzentrifuge der Firma Christ zentrifugiert. Der klare Überstand wurde in ein vorgekühltes Gefäß dekantiert.

Homogenate sowie Hilfsenzyme und Substrate wurden während der Messungen im Eisbad gehalten.

7) Bestimmungen im Homogenat bzw. im Serum

1. Bestimmung des Eiweißgehalts in Geweben :

In 0.05 ml Homogenat wurde der Proteingehalt nach der Biuretmethode ermittelt. An Hand eines Umrechnungsfaktors von 19 (BEISENHERZ 1953) läßt sich die

Eiweißmenge in g% angeben, als Extinktion bei 546 mμ x 19; (bei einer Schichtdicke von 2 cm).

2. Bestimmungen der Enzymaktivitäten

Die Bestimmung der Enzymaktivität erfolgte im optischen Test WARBURGs durch Messung der Extinktionsänderung des Coenzyms bei 366 mμ. Das Prinzip des Tests beruht auf der starken Lichtabsorption der hydrierten Cofermente DPNH bzw. TPNH bei Wellenlänge 340 und 366 mμ DPNH bzw. TPNH besitzen in diesem Bereich keine Absorptionsbande. Der Übergang der reduzierten Form in die oxydierte Form wird am Verschwinden bei umgekehrter Reaktion an der Zunahme der Extinktion meßbar. Ist an der Enzymreaktion DPNH (TPNH) beteiligt, so kann die Enzymaktivität im einfachen optischen Test über die eintretende DPNH- TPNH - Oxydation direkt ermittelt werden (z. B. Dehydrogenasenbestimmung).

Verläuft die Enzymreaktion unabhängig von TPN (Beispiel Transaminasebestimmung), dann findet der "gekoppelte" optische Test (= sekundär TPN bzw. DPN- abhängige Hydrogenase Reaktion) Anwendung. Hierbei läßt man die Reaktionsprodukte der Enzymreaktion als Substrate einer TPN (DPN) -abhängigen Enzymreaktion durch Zusatz des Coenzyms und des betreffenden Enzyms weiterreagieren. Mit dieser Indikatorreaktion wird zu jedem Zeitpunkt die Menge des primär entstehenden Reaktionsproduktes angezeigt.

Die Berechnung der Enzymaktivität erfolgte nach der Definition, wie BÜCHER sie für verschiedene Dehydrogenasen und Enzyme, die in gekoppelter Reaktion mit diesen reagieren, angegeben hat.

Danach ist eine Enzymeinheit diejenige Enzymmenge, die die DPNH-Extinktion bei 366 mμ in 100 sec um 0,100 ändert (bei Schichtdicke 1 cm), d.h. 0,03 Mikromol DPN/cm^3 Testlösung umsetzt.
Es gilt bei der Berechnung der Enzymaktivität im Serum:

$$\frac{100 \text{ x Testvolumen}}{\text{registrierte Zeit in sec x Vol Serum i Test}} = \text{BE/ml}$$

Es gilt bei der Berechnung der Enzymaktivität im Homogenat:

$$\frac{100 \text{ x Testvolumen x Präparatverdünnung}}{\text{registrierte Zeit in sec x Vol Homogenat i Test}} = \text{BE/g Frischgewicht}$$

Es wird hierbei also auf g Frischgewicht des untersuchten Organs Bezug genommen.

3. Bestimmung der spezifischen Aktivität

Die spezifische Aktivität bezieht sich auf mg Protein (bestimmt durch die Biuret

Methode) pro g des untersuchten Gewebes.

Es gilt also:

$$\frac{\text{BE pro g Frischgewicht}}{\text{mg Protein in g Frischgewebe}} = \text{Spezifische Aktivität}$$

Die Komponenten der Testansätze wurden in der angegebenen Reihenfolge in eine 1 ml Küvette von 1 cm Schichtlänge pipettiert und gut vermischt. Nachdem nicht beteiligte DPN-abhängige Enzymsysteme im Vorlauf abreagiert waren, wurde die eigentliche enzymatische Umsetzung durch Zusatz des Substrates gestartet. Alle Messungen liefen bei 25° ab. Die auf dem Eppendorf Photometer angezeigten Extinktionsänderungen wurden von einem Schreibgerät auf Millimeterpapier übertragen.
Homogenat, Serum, Hilfsenzyme und Substrate standen bis zu ihrer Verwendung im Eisbad.

8) Die einzelnen Enzymteste im Homogenat

Wenn nicht anders angegeben, wurden die Lösungen mit aqua bidest bereitet und die pH-Werte mit Natronlauge eingestellt.
Die Messungen der einzelnen Enzyme im Homogenat erfolgten nach folgenden Ansätzen:

GSDH:

Reaktionsprinzip:

$$KGS + NH_4^+ + DPNH + H^+ \longleftrightarrow Glutamat + DPN^+ + H_2O$$

Ansatz:
0,015 ml DPNH (10 mg/ml); 0,905 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,025 ml Trilon (50 mg/ml); 0,025 ml KGS (73 mg Na-Salz/ml, pH 6,6-6,9); 0,005 ml 3m Ammonacetat;
Start mit 0,025 Homogenat-Überstand.

LDH:

Reaktionsprinzip:

$$PY + DPNH + H^+ \longleftrightarrow Lactat + DPN^+$$

Ansatz:
0,025 ml DPNH (10 mg/ml); 0,950 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,015 ml BTS (16,5 mg/ml, pH 6,6 - 6,8);
Start mit 0,01 ml Homogenat-Überstand.

MDH:

Reaktionsprinzip:

$$OES + DPN + H^{+} \rightleftharpoons Malat + DPN^{+}$$

Ansatz:

0, 02 ml DPNH (10 mg/ml); 0, 89 ml 0, 05 m Trap mit Trilon pH 7, 5; 0, 08 ml OAA (3 mg/ml);
Start mit 0, 01 ml Homogenat-Überstand.

GOT:

Reaktionsprinzip:

$$KGS + Asparagat \rightleftharpoons Glutamat + OES$$

Indikatorreaktion:

$$OES + DPNH + H^{+} \overset{MDH}{\rightleftharpoons} Malat + DPN^{+}$$

Ansatz:

0, 03 ml DPNH (10 mg/ml); 0, 85 ml 0, 1 m Phosphatpuffer mit Trilon pH 7, 5; 0, 02 ml KGS (73 mg Na-Salz/ml, pH 6, 6 - 6, 9); 0, 025 ml MDH (0, 5 mg/ml);
0, 025 ml Homogenat-Überstand;
Start mit 0, 05 ml Asparagat (133 mg/ml 1 n NaOH pH 7, 5);

PK:

Reaktionsprinzip:

$$PEP + ADP \rightleftharpoons PY + ATP$$

Indikatorreaktion:

$$PY + DPNH + H^{+} \overset{LDH}{\rightleftharpoons} Lactat + DPN^{+}$$

Ansatz:

0, 025 ml DPNH (10 mg/ml); 0, 625 ml 0, 05 m Trap mit Trilon pH 7, 5; 0, 125 ml 0, 5 m $MgSO_4$; 0, 05 ml 2 m KCL;
0, 05 ml ADP (6 mg/ml); 0, 05 ml PBTS (130 mg PEP - C, pH 7, 6 ad 8 ml); 0, 025 ml LDH (5 mg/ml);
Start mit 0, 05 ml Homogenat-Überstand.

ICDH:

Reaktionsprinzip:

$$ICA + TPN^{+} \rightleftharpoons KGS + TPNH + H^{+} + CO_2$$

Ansatz:

0, 05 ml TPN (10 mg/ml); 0, 805 0, 05 m Trap mit Trilon pH 7, 5; 0, 10 ml ICA; 0, 02 ml 0, 2m $MnCl_2$;
Start mit 0, 025 ml Homogenat-Überstand;
(Darstellung der Isocitrat-Lösung: 139 mg DL Isocitronensäure-Lacton in etwas aqua bidest. lösen, auf pH 9 - 10 bringen,

10 Minuten in kochendes Wasserbad stellen, dabei laufend den pH-Wert prüfen bzw. regulieren. Nach dem Abkühlen der Lösung diese auf pH 7,4 einstellen (eventuell mit HCL) und mit aqua bidest. auf 10 ml auffüllen).

GAPDH:

Reaktionsprinzip:

$$1,3\text{-DPG} + \text{DPNH} + H^+ \rightleftharpoons \text{GAP} + DPN^+ + \text{Phosphat}$$

Hilfsreaktion zur Lieferung von 1,3-DPG;

$$3\text{-PGS} + \text{ATP} \xrightleftharpoons{\text{PGK}} 1,3\ \text{DPG} + \text{ATP}$$

Ansatz:

0,02 ml DPNH (10 mg/ml); 0,715 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,10 ml 3-PGS (360 mg tri-Cyclo-hexylammoniumsalz/ml 0,05 m Trap pH 7,5 mit aqua bidest. ad 5 ml); 0,025 GSH (15 mg/ml); 0,02 ml 0,5 m $MgSO_4$; 0,10 ml ATP (40 mg/ml Trap pH 7,6 - 8,0); 0,01 ml PGK (2 mg/ml);
Start mit 0,01 ml Homogenat-Überstand.

ENO:

Reaktionsprinzip:

$$2\text{-PGS} \rightleftharpoons \text{PEP} + H_2O$$

Hilfs- und Indikatorreaktionen:

$$\text{PEP} + \text{ADP} \xrightleftharpoons{\text{PK}} \text{PY} + \text{ATP}$$

$$\text{PY} + \text{DPNH} + H^+ \xrightleftharpoons{\text{LDH}} \text{Lactat} + DPN^+$$

Ansatz:

0,025 ml DPNH (10 mg/ml); 0,64 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0, 10 ml 0,5 m $MgSO_4$; 0,05 ml 2 m KCL; 0,10 ml ADP (6 mg/ml); 0,025 ml 2-PGS; 0,005 ml PK; (2 mg:ml); 0,005 ml LDH (5 mg/ml);
Start mit 0,05 ml Homogenat-Überstand.
Herstellung der 2-PGS-Lösung:
40 mg Bariumsalz mit 1 ml aqua bidest., 0,5 ml H_2SO_4 und 0,5 ml Trap versetzen, zentrifugieren, den Überstand auf pH 6,6 - 6,8 einstellen und mit aqua bidest. auf 2,5 ml auffüllen.

6-PGDH:

Reaktionsprinzip:

$$6\text{-PG} + TPN^+ \rightleftharpoons \text{Ribulose-5-phosphat} + CO_2 + \text{TPNH} + H^+$$

Ansatz:

0,05 ml TPN (10 mg/ml); 0,80 ml 0,05 m Trap mit

Trilon pH 7,5; 0,05 ml 6-PG (29 mg tri-Cyclohexylammoniumsalz ad 2,5 ml pH 6,6 - 7,2); 0,05 ml 0,1 m $MgCl_2$;
Start mit 0,05 ml Homogenat-Überstand.

G-6-PDH:

Reaktionsprinzip:

$$G\text{-}6\text{-}P + TPN \rightleftharpoons 6\text{-}PG + TPNH + H^+$$

Ansatz:
0,05 ml TPN (10 mg/ml); 0,80 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,05 ml G-6-P (31 mg Na-Salz/5 ml pH 6,6 - 6,8);
Start mit 0,10 ml Homogenat-Überstand.

SODH:

Reaktionsprinzip:

$$\text{Fructose} + DPNH + H^+ \rightleftharpoons \text{Sorbit} + DPN$$

Ansatz:
0,025 ml DPNH (10 mg/ml); 0,835 ml 0,05 m Trap pH 7,5; 0,20 ml 1,25 m Fructose;
Start mit 0,05 ml Homogenat-Überstand.

ADH:

Reaktionsprinzip:

$$\text{Acetaldehyd} + DPNH + H^+ \rightleftharpoons \text{Äthanol} + DPN^+$$

Ansatz:
0,015 ml DPNH (10 mg/ml); 0,835 ml 0,05 m Trap; 0,05 1 m Acetaldehyd;
Start mit 0,10 ml Homogenat-Überstand.

PFA:

Reaktionsprinzip:

$$F\text{-}1\text{-}P \rightleftharpoons \text{Glycerinaldehyd} + DAP$$

Indikatorreaktion:

$$DAP + DPNH + H^+ \xrightleftharpoons{GDH} \alpha\text{-}GP + DPN^+$$

Ansatz:
0,02 ml DPNH (10 mg/ml); 0,82 ml 0,05 m Trap mit Trilon; 0,05 ml F-1-P (260 mg tri-Cyclohexylammoniumsalz ad 2,5 ml pH 7,0 - 7,5);
Start mit 0,10 ml Homogenat-Überstand

GPT:

Reaktionsprinzip:

$$KGS + Alanin \rightleftharpoons Glutamat + PY$$

Indikatorreaktion:

$$PY + DPNH + H^+ \xrightleftharpoons{LDH} Lactat + DPN^+$$

Ansatz:

0,025 ml DPNH (10 mg/ml); 0,70 ml 0,1 m Phosphatpuffer pH 7,5; 0,025 ml KGS (73 mg Na-Salz/ml pH 6,6 - 6,7); 0,025 ml LDH (5 mg/ml); 0,025 ml Homogenat-Überstand;
Start mit 0,20 ml 1-Alanin (75 mg/ml Phosphatpuffer pH 7,5).

GDH:

Reaktionsprinzip:

$$DAP + DPNH + H^+ \rightleftharpoons \alpha\text{-GP} + DPN^+$$

Zur Lieferung von DAP ist als Hilfsreaktion vorgeschaltet:

$$FDP \xrightleftharpoons{ALD} DAP + GAP$$

Ansatz:

0,02 ml DPNH (10 mg/ml); 0,86 ml 0,05 m Trap mit Trilon; 0,05 ml FDP (40 mg Na-Salz/ml pH 7,0 - 7,5); 0,01 ml ALD (10 mg/ml); 0,01 ml TIM (2 mg/ml);
Start mit 0,05 ml Homogenat-Überstand.

ALD:

Reaktionsprinzip:

$$FDP \rightleftharpoons GAP + DAP$$

Hilfs- und Indikatorreaktionen:

$$GAP \xrightleftharpoons{TIM} DAP$$

$$2\,DAP + 2\,DPNH + 2\,H^+ \xrightleftharpoons{GDH} 2\alpha\text{-GP} + 2\,DPN^+$$

Ansatz:

0,02 ml DPNH (10 mg/ml); 0,87 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,05 ml FDP (40 mg Na-Salz/ml pH 7,0 - 7,5); 0,01 ml GDH/TIM (2 mg/ml Mischungsverhältnis der Aktivitäten 1 : 3)
Start mit 0,05 ml Homogenat-Überstand.

HK:

Reaktionsprinzip:

$$Glucose + ATP \longrightarrow G\text{-}6\text{-}P + ADP$$

Hilfs- und Indikatorreaktionen:

$$ADP + PBTS \xleftarrow{PK} ATP + PY$$

$$PY + DPNH + H^{+} \xleftarrow{LDH} Lactat + DPN^{+}$$

Ansatz:

0,05 ml DPNH (10 mg/ml); 0,30 ml 0,05 m Trap mit Trilon; 0,30 ml 0,5 m Glucose (in Trap); 0,05 ml 0,05 m $MgSO_4$; 0,025 ml 2 m KCL; 0,10 ml PBTS (130 mg PEP - C/8 ml pH 7,6); 0,10 ATP (40 mg/ml Trap pH 7,6 - 8,0); 0,025 ml PK (2 mg/ml); 0,025 ml LDH (5 mg/ml);

Start mit 0,025 ml Homogenat-Überstand

PGK:

Reaktionsprinzip:

$$3\ PGS + ATP \longrightarrow 1,3\ PG + ADP;$$

Indikatorreaktion:

$$1,3\ DPG + DPNH + H^{+} \xleftarrow{GAPDH} GAP + DPN^{+} + Phosphat$$

Ansatz:

0,015 ml DPNH (10 mg/ml); 0,66 ml 0,05 m Trap; 0,03 ml Trilon (50 mg/ml); 0,015 0,5 m $MgSO_4$; 0,05 ml GSH (15 mg/ml); 0,10 ml ATP (40 mg/ml Trap pH 7,6 - 8,0); 0,08 ml 3 PGS (360 mg tri-Cyclohexylammoniumsalz / ml 0,05 m Trap pH 7,5) mit aqua bidest. ad 5 ml); 0,04 ml GAPDH (10 mg/ml);

Start mit 0,01 ml Homogenat-Überstand

Alle biochemischen Reagentien stammen von der Firma Boehringer & Söhne, Mannheim, die übrigen sind analysenreine Handelspräparate (Merck, Darmstadt).

9) Die einzelnen Enzymteste im Serum

Wenn nicht anders angegeben, wurden die Lösungen mit aqua bidest. bereitet und die pH-Werte mit Natronlauge eingestellt.
Die Messungen der einzelnen Enzyme im Serum erfolgte nach folgenden Ansätzen.

GSDH:

Reaktionsprinzip:

$$KGS + NH_4^+ + DPNH^+ \longleftrightarrow Glutamat + DPN^+ + H_2O$$

Ansatz:
0, 015 ml DPNH (10 mg/ml); 0, 680 ml 0, 05 m Trap;
0, 025 ml Trilon (50 mg/ml); 0, 005 ml 3 m Ammonacetat; 0, 250 ml Serum;
Start mit 0, 025 ml KGS (73 ml Na-Salz/ml, pH 6, 6 - 6, 9);

LDH:

Reaktionsprinzip:

$$PY + DPNH + H^+ \longleftrightarrow Lactat + DPN^+$$

Ansatz:
0, 025 ml DPNH (10 mg/ml); 0, 710 ml 0, 05 m Trap;
0, 250 ml Serum;
Start mit 0, 015 ml BTS (16, 5 mg/ml, pH 6, 6 - 6, 8);

MDH:

Reaktionsprinzip:

$$OES + DPNH + H^+ \longleftrightarrow Malat + DPN^+$$

Ansatz:
0, 020 ml DPNH (10 mg/ml); 0, 650 ml 0, 05 m Trap;
0, 250 ml Serum ;
Start mit 0, 080 ml OAA (3 mg/ml);

GOT:

Reaktionsprinzip:

$$KGS + Asparagat \longleftrightarrow Glutamat + OES$$

Indikatorreaktion:

$$OES + DPN + H^+ \xleftrightarrow{MDH} Malat + DPN^+$$

0, 030 ml DPNH (10 mg/ml); 0, 630 ml 0, 1 m Phosphatpuffer pH 7, 5; 0, 020 ml KGS (73 mg Na-Salz /ml pH 6, 6 - 6, 9); 0, 020 ml MDH (0, 5 mg/ml); 0, 250 ml Serum;
Start mit 0, 050 ml Asparagat (133 mg/ml 1 n NaOH pH 7, 5);

PK:

Reaktionsprinzip:

$$PEP + ADP \rightleftharpoons PY + ATP$$

Indikatorreaktion:

$$PY + DPNH + H^{+} \xrightleftharpoons{LDH} Lactat + DPN^{+}$$

Ansatz:

0,030 ml DPNH (10 mg/ml); 0,300 ml 0,05 m Trap pH 7,5);
0,100 ml PBTS (130 mg PEP-C pH 7,6 ad 8 ml);
0,025 ml Trilon (50 mg/ml); 0,100 ml 0,5 m $MgSO_4$;
0,050 ml 2 m KCL; 0,025 ml LDH (5 mg/ml); 0,250 ml Serum ;
Start mit 0,120 ml ADP (6 mg/ml)

ICDH:

Reaktionsprinzip:

$$ICA + TPN^{+} \rightleftharpoons KGS + TPNH + H^{+} + CO_2$$

Ansatz:

0,050 ml TPN (10 mg/ml); 0,580 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,020 ml 0,2 m $MnCl_2$; 0,250 ml Serum;
Start mit 0,100 ml ICA;
Darstellung der Isocitrat-Lösung: 139 mg DL- Isocitronensäure-Lacton in etwas aqua bidest. lösen, auf pH 9 - 10 bringen, 10 Minuten in kochendes Wasserbad stellen, dabei laufend den pH-Wert prüfen bzw. regulieren. Nach dem Abkühlen der Lösung diese auf pH 7,4 einstellen (eventuell mit HCl) und mit aqua bidest. auf 10 ml auffüllen.

GAPDH:

Reaktionsprinzip:

$$1,3\text{-DPG} + DPNH + H^{+} \rightleftharpoons GAP + DPN^{+} + \text{Phosphat}$$

Hilfsreaktion zur Lieferung von 1,3-DPG;

$$3\text{-PGS} + ATP \xrightleftharpoons{PGK} 1,3\ DPG + ATP$$

Ansatz:

0,020 ml DPNH (10 mg/ml); 0,475 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,025 ml GSH (15 mg/ml); 0,100 ml 3-PGS (360 mg tri-Cyclohexylammoniumsalz/ml 0,05 m Trap pH 7,5); 0,020 ml 0,5 m $MgSO_4$; 0,010 ml PGK (2 mg/ml); 0,250 ml Serum ;
Start mit 0,100 ml ATP (40 mg/ml Trap pH 7,6 - 8,0);

ENO:

Reaktionsprinzip:

$$2\text{-PGS} \rightleftharpoons PEP + H_2O$$

Hilfs- und Indikatorreaktionen:

$$PEP + ADP \xrightleftharpoons{PK} PY + ATP$$

$$PY + DPNH + H^+ \xrightleftharpoons{LDH} Lactat + DPN^+$$

Ansatz:

0,025 ml DPNH (10 mg/ml); 0,440 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,100 ml 0,5 m $MgSO_4$; 0,050 ml 2 m KCl; 0,100 ml ADP (6 mg/ml); 0,005 ml PK (2 mg/ml); 0,005 ml LDH (5 mg/ml); 0,250 ml Serum;
Start mit 0,025 ml 2-PGS;
Herstellung der 2-PGS-Lösung: 40 mg Bariumsalz mit 1 ml aqua bidest., 0,5 ml H_2SO_4 und 0,5 ml Trap versetzen, zentrifugieren, den Überstand auf pH 6,6 - 6,8 einstellen und mit aqua bidest. auf 2,5 ml auffüllen.

6-PGDH:

Reaktionsprinzip:

$$6\text{-PG} + TPN^+ \rightleftharpoons \text{Ribulose-5-phosphat} + CO_2 + TPNH + H^+$$

Ansatz:

0,050 ml TPN (10 mg/ml); 0,600 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,050 ml 0,1 m $MgCl_2$; 0,250 ml Serum;
Start mit 0,050 ml 6-PG (29 mg tri-Cyclohexylammonium-salz ad 2,5 ml pH 6,6 - 7,2)

G-6-PDH:

Reaktionsprinzip:

$$G\text{-}6\text{-}P + TPN \rightleftharpoons 6\text{-PG} + TPNH + H^+$$

Ansatz:

0,100 ml TPN (10 mg/ml); 0,600 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,250 ml Serum;
Start mit 0,050 ml G-6-P (31 mg Na-Salz/5 ml pH 6,6 - 6,8)

SODH:

Reaktionsprinzip:

$$\text{Fructose} + DPNH + H^+ \rightleftharpoons \text{Sorbit} + DPN$$

Ansatz:

0,025 ml DPNH (10 mg/ml); 0,525 ml 0,05 m Trap pH 7,5); 0,250 ml Serum;
Start mit 0,200 ml 1,25 m Fructose;

ADH:

Reaktionsprinzip:

Acetaldehyd + DPNH + H^+ $\rightleftharpoons$ Äthanol + DPN^+

Ansatz:

0,015 ml DPNH (10 mg/ml); 0,685 ml 0,05 m Trap pH 7,5; 0,250 ml Serum;

Start mit 0,050 ml 1 m Acetaldehyd;

PFA:

Reaktionsprinzip:

F-1-P $\rightleftharpoons$ Glycerinaldehyd + DAP

Indikatorreaktion:

DAP + DPNH + H^+ $\overset{GDH}{\rightleftharpoons}$ GP + DPN^+

Ansatz:

0,020 ml DPNH (10 mg/ml); 0,670 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,010 ml GDH (2 mg/ml); 0,250 ml Serum;

Start mit 0,050 ml F-1-P (260 mg tricyclohexylammoniumsalz ad 2,5 ml pH 7,0 - 7,5);

GPT:

Reaktionsprinzip:

KGS + Alanin $\rightleftharpoons$ Glutamat + PY

Indikatorreaktion:

PY + DPNH + H^+ $\overset{LDH}{\rightleftharpoons}$ Lactat + DPN^+

Ansatz:

0,025 ml DPNH (10 mg/ml); 0,470 ml 0,1 m Phosphatpuffer pH 7,5); 0,030 ml KGS (73 mg Na-Salz/ml) pH 6,6 - 6,7); 0,025 ml LDH (5 mg/ml); 0,250 ml Serum;

Start mit 0,200 ml 1-Alanin (75 mg/ml Phosphatpuffer pH 7,5);

GDH:

Reaktionsprinzip:

DAP + DPNH + H^+ $\rightleftharpoons$ α - GP + DPN^+

Zur Lieferung von DAP ist als Hilfsreaktion vorgeschaltet:

FDP $\overset{ALD}{\rightleftharpoons}$ DAP + GAP

Ansatz:

0,020 ml DPNH (10 mg/ml); 0,660 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5); 0,010 ml TIM (2 mg/ml); 0,010 ml

ALD (10 mg/ml); 0,250 ml Serum;
Start mit 0,050 ml FDP (40 mg Na-Salz/ml pH 7,0 - 7,5);

ALD:

Reaktionsprinzip:

$$FDP \rightleftharpoons GAP + DAP$$

Hilfs- und Indikatorreaktionen:

$$GAP \xrightleftharpoons{TIM} DAP$$

$$2\ DAP + 2\ DPNH + 2\ H^+ \xrightleftharpoons{LDH} 2\alpha\text{-}GP + 2\ DPN^+$$

Ansatz:
0,020 ml DPNH (10 mg/ml); 0,670 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5); 0,010 ml GDH/TIM (2 mg/ml, Mischungsverhältnis der Aktivitäten 1 : 3);
0,250 ml Serum
Start mit 0,05 ml FDP (40 mg Na-Salz /ml pH 7,0 - 7,5);

HK:

Reaktionsprinzip:

$$Glucose + ATP \rightleftharpoons G\text{-}6\text{-}P + ADP$$

Hilfs- und Indikatorreaktionen:

$$ADP + PBTS \xrightleftharpoons{PK} ATP + PY$$

$$PY + DPNH + H^+ \xrightleftharpoons{LDH} Lactat + DPN^+$$

Ansatz:
0,050 ml DPNH (10 mg/ml); 0,225 ml 0,05 m Trap mit Trilon pH 7,5; 0,050 ml 0,05 m $MgSO_4$; 0,050 ml 2 m KCl; 0,100 ml PBTS (130 mg PEP-C / 8 ml pH 7,6) ; 0,300 ml 0,5 m Glucose (in Trap); 0,025 ml PK (2 mg/ml); 0,025 ml LDH (5 mg/ml); 0,250 ml Serum;
Start mit 0,100 ml ATP (40 mg/ml Trap pH 7,6 - 8,0);

PGK:

Reaktionsprinzip:

$$PGS + ATP \rightleftharpoons 1,3\text{-}PG + ADP$$

Indikatorreaktion:

$$1,3\ DPG + DPNH + H^+ \xrightleftharpoons{GAPDH} GAP + DPN^+ + Phosphat$$

Ansatz:
0,015 ml DPNH (10 mg/ml) ; 0,420 ml 0,05 m Trap; 0,030 ml Trilon (50 mg/ml); 0,015 ml 0,5 m $MgSO_4$; 0,050 ml GSH (15 mg/ml); 0,080 ml 3-PGS (360 mg tri-Cyclohexylammoniumsalz /ml 0,05 m Trap pH 7,4 aqua bidest. ad 5 ml); 0,040 ml GAPDH (10 mg/ml);

0, 250 ml Serum;
Start mit 0, 100 ml ATP (40 mg/ml Trap pH 7, 6 - 8, 0);

Alle biochemischen Reagentien stammen von der Firma Boehringer & Söhne, Mannheim, die übrigen sind analysenreine Handelspräparate (Firma Merck, Darmstadt).

In der vorliegenden Arbeit werden folgende Abkürzungen verwendet:

ADH	=	Alkohol-Dehydrogenase
ALD	=	Aldolase
ADP, ATP	=	ADENOSIN- di-, tri-phosphat
BTS	=	Brenztrauensäure
DAP	=	Dihydroxyacetonphosphat
DPN, DPNH	=	Diphosphopyridinnucleotid (oxyd. bzw. reduz. Form)
1,3-DPG	=	1,3 Diphosphoglycerat
ENO	=	Enolase
FDP	=	Fructose-1,6-diphosphat
F-6-P	=	Fructose-6-phosphat
GAP	=	Glycerinaldehydphosphat
GAPDH	=	Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase
GDH	=	α - Glycerophosphat-Dehydrogenase
GLDH	=	Glutaminsäure-Dehydrogenase
GOT	=	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	=	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
α -GP	=	α - Glycerophosphat
G-6-P	=	Glucose-6-phosphat
G-6-PDH	=	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
GSH	=	Glutathion (reduziert)
HK	=	Hexokinase
ICDH	=	Isocitrat - Dehydrogenase
KGS	=	α - Ketoglutarat
LDH	=	Lactat-Dehydrogenase
MDH	=	Malat-Dehydrogenase
OES	=	Oxalessigsäure
PEP	=	Phospho-enol-pyruvat
PFA	=	1-Phosphofructaldolase
6-PGDH	=	6-Phosphogluconat-Dehydrogenase
6-PG	=	Phosphogluconat
PGK	=	Phosphoglycero-Kinase
2-PGS	=	2-Phosphoglycerinsäure
3-PGS	=	3-Phosphoglycerinsäure
PK	=	Pyruvat-Kinase
PY	=	Pyruvat
SODH	=	Sorbit-Dehydrogenase
TIM	=	Triosephosphat-Isomerase
TPN, TPNH	=	Triphosphopyridinnucleotid (oxyd. bzw. reduz. Form)
TRAP	=	Triäthanolaminpuffer

III. ERGEBNISSE

1) Makroskopischer Befund der Niere

Die kontralaterale gesunde Niere war in jedem Fall makroskopisch unauffällig. Die kranken Nieren waren vergrößert, zeigten gelbliche, teils stecknadelkopfgroße, teils ausgedehntere leicht erhabene Flecke, aber auch Abscesse. Auf der Schnittfläche sah man gelblich, radiär angeordnete Streifen sowie Eiteransammlungen. Siehe Abbildungen Seite 37 .

2) Mikroskopischer Befund

Mikroskopisch zeigten die kontralateralen gesunden Nieren keine entzündlichen Veränderungen.
Das mikroskopische Bild der makroskopisch schon veränderten Nieren glich dem Bild, das man bei der menschlichen akuten Pyelonephritis findet.

Es gab zahlreiche interstitielle perivasculäre entzündliche Herde, die keilförmig, mit der Basis in der Rinde, angeordnet waren. Die Entzündungsherde zeigten im Anfang Monocyten- und Leukocyteninfiltrationen. Im fortgeschrittenerem Krankheitsverlauf zeigte sich eine deutliche Abscessbildung. Die Glomeruli waren unbeteiligt. Eiter und Bakterien findet man erst im Nephron, wenn die interstitiellen Herde ins Nephron eingebrochen sind.

3) Befund der bakteriologischen Untersuchung[+)]

Von den Nierenschnittflächen der erkrankten Nieren wurden Abstriche zur bakteriologischen Untersuchung gemacht. Bei dieser Untersuchung ließen sich Colibakterien nachweisen, die dem injizierten Colistamm entsprachen.

[+)] Die bakteriologische Untersuchung wurde im Institut für Bakteriologie des Krankenhauses Rechts der Isar in München, Direktor Professor Dr. Liebermeister, durchgeführt, wofür wir bestens danken.

4) Ergebnisse der Enzymmessungen

Die Enzymaktivitäten wurden in der Zeit von 96 - 168 Stunden p. o. im Serum und 96 - 120 Stunden und 144 - 168 Stunden p. o. im Nierengewebe ermittelt.

Die Tabelle 1 gibt die Werte der untersuchten Enzymaktivitäten im Serum gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten 96 - 168 Stunden p. o. an.

Die Tabelle 2 unterrichtet über Aktivitäten der untersuchten Enzyme im Nierenhomogenat gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten in der Zeit von 96 - 120 Stunden und 144 - 168 Stunden p. o.

Die Tabelle 3 enthält die Werte der spezifischen Aktivitäten im Nierenhomogenat gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten 96 - 120 Stunden und 144 - 168 Stunden p. o.

Für jedes Enzym ist der Mittelwert der entsprechenden Versuchsreihe, sowie die Zahl der Einzelmessungen angegeben.
Soweit Hinweise auf Aktivitätsänderungen bestanden, wurden die Werte statistisch berechnet (WEBER 1964).[+)]
Signifikante Unterschiede sind anzunehmen, wenn P kleiner als 0,05 ist. Ist P größer als 0,05, so wird auf eine entsprechende Angabe verzichtet.

Die Tabelle 4 enthält die Werte der statistisch signifikant veränderten Serum - Enzymaktivitäten.

Die Tabelle 5 enthält die Werte der statistisch signifikant veränderten Enzymaktivitäten im Nierenhomogenat.

5) Enzymaktivitäten im Serum der gesunden Ratte

a) GSDH = 0,18 BE; ICDH = 0,40 BE; ADH = 0,19 BE; SODH = 0,36 BE; PFA = 0,26 BE; G-6-PDH = 0,38 BE; und 6-PGDH = 0,22 BE sind im Serum der Ratte in solch geringen Mengen vorhanden, nämlich kleiner als 1 BE, daß sie unter den gegebenen Bedingungen als nicht exakt meßbar gelten dürfen.

b) Die Werte der Enzyme GPT = 1,77 BE; GOT = 8,26 BE; ALD = 5,15 BE; HK = 1,36 BE; GAPDH = 2,64 BE; ENO = 2,96 BE; GDH = 1,13 BE liegen mit ihren Werten zwischen 1 und 10 BE ungefähr in einer Größenordnung.

[+)] Das Bayerische Statistische Landesamt in München führte die Signifikanzberechnungen durch

c) Die Werte der Enzyme PK = 16, 74 BE; PGK = 31, 67 BE; LDH = 43, 40 BE; und MDH 41, 44 BE liegen zwischen 10 - 50 BE und haben etwa zehnfach höhere Werte als die unter 5 b) genannten Enzyme.

6) Enzymaktivitäten im Serum von Ratten mit infizierter Harnstauungsniere

a) GSDH = 0, 15 BE; ICDH = 0, 28 BE; ADH = 0, 19 BE; SODH = 0, 28 BE; PFA = 0, 26 BE; G-6-PDH = 0, 24 BE und 6-PGDH = 0, 24 BE sind mit Werten unter 1 BE in so geringen Mengen im Serum der kranken Ratten vorhanden, daß sie als nicht exakt meßbar gelten.

b) Mit Ausnahme von GDH = 0, 28 BE entsprechen die Werte der Enzyme GPT = 1, 94 BE; GOT = 4, 88 BE; ALD = 3, 75 BE; HK = 1, 17 BE; GAPDH = 3, 03 BE und ENO = 2, 80 BE den unter 5 b) genannten Enzymen. Auch sie liegen mit ihren Werten zwischen 1 - 10 BE.

c) Die Werte der Serumenzyme der erkrankten Tiere PK = 9, 58; PGK = 18, 29 BE; LDH = 27, 28 BE und MDH = 18, 96 sind im Vergleich zu den unter 5 c) genannten Serumenzyme der gesunden Tiere um die Hälfte erniedrigt.

7) Enzymaktivitäten im Nierenhomogenat der gesunden Ratte

a) Die Werte der Enzymaktivitäten 6-PGDH = 72, 49 BE; G-6-PDH = 87, 16 BE und ADH = 42, 98 BE liegen etwa in einer Größenordnung, nämlich zwischen 10 und 100 BE.

b) Die Werte der Enzymaktivitäten GSDH = 584, 47 BE; SODH = 504, 11 BE; PFA = 199, 35 BE; GPT = 809, 86 BE; GDH = 334, 17 BE; ALD = 331, 64 BE und HK = 531, 26 BE liegen mit ihren Werten zwischen 100 und 1000 BE in einer Größenordnung.

c) Die Werte der Enzymaktivitäten LDH = 6701, 54 BE; MDH = 13, 872, 06 BE; GOT = 2144, 29 BE; ICDH = 1380, 54 BE; ENO = 2056, 35 BE und PGK = 13210, 99 BE liegen zwischen 1000 und 10 000 BE.
Sie haben damit ungefähr hundertfach höhere Werte als die unter 7 a) genannten Enzyme.

8) Enzymaktivitäten im Nierenhomogenat der an infizierter Harnstauungsniere erkrankten Ratten

a) Die kontralateralen gesunden Nieren der operierten Tiere zeigen Enzymaktivitätswerte, die in ihrer Größenordnung den Werten der Enzymaktivitäten im Nierenhomogenat völlig gesunder Ratten gleichen (Die Werte sind unter Nr. 7a, 7 b und 7 c beschrieben).

b) Die Enzymaktivitäten von GAPDH = 3779, 09 BE; ENO = 1239, 09 BE; ADH = 12, 11 BE; PFA = 55, 58 BE und PGK = 6054, 83 BE zeigen eine deutliche Abnahme der Werte.

c) Eine Abnahme der Enzymaktivitäten sowohl 96 - 120 Stunden als auch 144 - 168 Stunden nach dem operativen Eingriff zeigen GSDH = 186, 90 bzw. 98, 78 BE; ICDH = 619, 15 bzw. 332, 38 BE; SODH = 102, 28 bzw. 79. 06 BE; und GDH = 104, 62 bzw. 48, 13 BE;

d) Eine Zunahme der Enzymaktivitäten im Homogenat der erkrankten Nieren zeigen G-6-PDH = 280, 55 BE und 6-PGDH = 109, 57 BE.

TABELLE I

Die Enzymaktivitäten im Serum gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten (angegeben in Bücher-Einheiten)
n = Anzahl der Bestimmungen

	Leerwert	96 - 168 Stunden p. o.
GSDH	0,18	0,158
n	6	6
LDH	43,40	27,26
n	6	6
MDH	41,44	18,96
n	6	6
GOT	8,26	4,88
n	6	6
PK	16,74	9,58
n	6	5
ICDH	0,40	0,28
n	6	6
GAPDH	2,64	3,03
n	6	6
ENO	2,96	2,80
n	6	6
6-PGDH	0,22	0,24
n	6	6
G-6-PDH	0,38	0,24
n	6	6
SODH	0,36	0,28
n	6	6
ADH	0,19	0,19
n	6	6
PFA	0,26	0,26
n	6	6
GPT	1,77	1,94
n	6	6
GDH	1,13	0,28
n	6	6
ALD	5,15	3,75
n	6	6

Fortsetzung TABELLE 1:

	Leerwert	96 - 168 Stunden p. o.
HK	1,36	1,17
n	6	6
PGK	31,67	18,29
n	6	6

TABELLE 2

Die Enzymaktivitäten im Nierengewebe gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten
(angegeben in Bücher-Einheiten)
n = Anzahl der Bestimmungen

	Leerwert	Leerwert 96-120 Std. p. o.	Leerwert 144-168 Std. p. o.	96 - 120 Std. p. o.	144 - 168 Std. p. o.
GSDH	584,47	455,88	491,41	186,90	98,78
n	11	5	8	12	12
LDH	6701,54	6624,33	7569,44	3981,42	5445,55
n	11	5	8	11	12
MDH	13872,06	11904,76	13333,33	7644,81	7173,08
n	9	5	8	12	12
GOT	2144,29	2725,93	2570,41	568,30	1073,08
n	11	5	8	12	8
PK	810,95	1459,29	1055,17	1114,22	1385,19
n	11	5	8	12	11
ICDH	1380,54	1530,27	1598,61	619,15	332,38
n	11	5	8	12	12
GAPDH	6138,91	9793,65	7235,68	3779,09	3377,25
n	11	5	7	10	12
ENO	2056,35	2102,49	2293,65	1239,09	1012,78
n	11	4	8	11	11
6-PGDH	72,49	85,54	86,32	109,57	115,32
n	11	4	8	12	12
G-6PDH	87,16	162,56	137,91	280,55	303,59
n	11	4	8	10	12
SODH	504,11	481,05	440,12	102,28	79,06
n	11	4	8	9	10

Fortsetzung TABELLE 2:

	Leerwert	Leerwert 96-120 Std. p. o.	Leerwert 144 - 168 Std. p. o.	96 - 120 Std. p. o.	144 - 168 Std. p. o.
ADH	42,98	40,90	40,44	12,11	9,22
n	11	4	8	12	12
PFA	199,35	166,82	196,39	55,68	34,92
n	11	4	8	11	12
GPT	809,86	740,13	800,53	313,18	244,12
n	11	4	7	10	12
GDH	334,17	128,52	163,57	104,62	48,13
n	10	4	7	8	11
ALD	331,64	519,80	502,59	333,00	287,98
n	11	4	8	12	12
HK	531,26	445,12	472,80	400,73	283,15
n	11	4	8	8	12
PGK	13210,99	10879,63	11283,07	6054,83	5191,29
n	11	4	8	10	12

TABELLE 3

Die spezifische Aktivität im Nierengewebe gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten angegeben in Einheiten pro mg Protein in 1 g Frischgewebe

n = Anzahl der Bestimmungen

	Leerwert	Leerwert 96 - 120 Std. p. o.	Leerwert 144 - 168 Std. p. o.	96 - 120 Std. p. o.	144 - 168 Std. p. o.
GSDH	5,55	5,32	42,21	2,45	1,29
n	11	5	8	12	12
LDH	64,27	71,34	73,87	55,09	70,91
n	11	5	8	11	12
MDH	131,01	125,13	130,17	100,47	94,96
n	9	5	8	12	12
GOT	20,44	29,86	24,89	23,00	14,28
n	11	5	8	12	8
PK	7,75	12,45	10,36	15,09	17,96
n	11	5	8	12	11
ICDH	13,14	16,82	15,43	8,59	4,34
n	11	5	8	12	12
GAPDH	59,04	108,99	70,77	49,39	42,93
n	11	5	7	10	12
ENO	19,65	22,81	22,11	16,04	13,31
n	11	4	8	11	11
6-PGDH	0,68	1,12	0,84	1,43	1,97
n	11	4	8	11	12
G-6-PDH	0,86	1,78	2,63	3,66	4,06
n	11	4	8	10	12
SODH	4,84	5,23	4,62	1,23	0,98
n	11	4	8	10	12
ADH	0,41	0,42	0,39	0,15	0,18
n	11	4	8	12	12
PFA	1,72	1,77	1,90	0,66	0,45
n	11	4	8	11	12
GPT	7,71	7,69	7,69	3,94	3,29
n	11	4	7	10	12
GDH	3,18	1,34	1,55	1,16	0,64
n	10	4	7	8	11
ALD	3,11	5,42	4,85	4,07	3,75
n	11	4	8	12	12
HK	4,98	4,62	4,50	5,21	3,69
n	11	4	8	8	12
PGK	125,97	122,27	99,82	78,30	66,94
n	11	4	8	10	12

TABELLE 4

Statistische Signifikanz der Differenzen der Enzymaktivitäten im Serum gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten

	Leerwert	96 - 168 Std. p. o.
LDH	43, 40	27, 26
n	6	8
t		4, 99
p		< 0, 001
MDH	41, 44	18, 96
n	6	10
t		9, 48
P		< 0, 001
GOT	8, 26	4, 88
n	6	11
t		4, 92
P		< 0, 001
PK	16, 74	9, 58
n	6	10
t		7, 02
P		< 0, 001
ICDH	0, 40	0, 28
n	6	6
t		2, 62
P		< 0, 02
G-6-PDH	0, 22	0, 24
n	6	6
t		3, 39
P		< 0, 01
GDH	1, 33	0, 28
n	6	9
t		6, 39
P		< 0, 001
ALD	5, 15	3, 75
n	6	7
t		4, 29
		< 0, 001
PGK	31, 62	18, 59
n	6	6
t		8, 96
P		< 0, 001

Enzymaktivitäten in Bücher-Einheiten pro ml; n = Anzahl der Bestimmungen
t = Abweichung P = Signifikanz der Veränderungen gegenüber den Normalwerten

TABELLE 5

Statistische Signifikanz der Differenzen der Enzymaktivitäten im Nierengewebe gesunder und an infizierter Harnstauungsniere erkrankter Ratten

	Leerwert	96 - 120 St. p. o.	144 - 168 Std. p. o.
GSDH	584,47	186,90	98,78
n	11	12	12
t		5,35	15,87
P		< 0,001	< 0,001
LDH	6701,54	3981,42	5445,55
n	11	11	12
t		2,90	1,03
P		< 0,01	
MDH	13827,16	6824,64	7173,08
n	9	12	12
t		6,23	6,30
P		< 0,001	< 0,001
GOT	2144,30	568,30	1073,08
n	11	12	8
t		4,20	3,63
P		< 0,001	< 0,001
PK	810,95	1114,22	1385,19
n	11	12	10
t		3,80	5,44
P		< 0,002	< 0,001
ICDH	1380,55	691,15	332,38
n	11	12	12
t		5,58	12,22
P		< 0,001	< 0,001

Enzymaktivitäten in Bücher-Einheiten

n = Anzahl der Bestimmungen
t = Abweichung
P = Signifikation der Veränderungen gegenüber den Normalwerten

Fortsetzung Tabelle 5:

	Leerwert	96 - 120 Std. p. o.	144 - 168 Std. p. o.
GAPDH	6139, 91	3779, 09	3377, 25
n	11	10	12
t		5, 06	4, 61
P		< 0, 001	< 0, 001
ENO	2056, 35	1239, 09	1012, 78
n	11	11	11
t		5, 86	8, 15
P		< 0, 001	< 0, 001
6-PGDH	72, 46	109, 57	115, 32
n	11	12	12
t		3, 17	3, 67
P		< 0, 01	< 0, 01
G-6-PDH	87, 16	280, 55	303, 59
n	11	10	12
t		9, 39	9, 66
P		< 0, 001	< 0, 001
SODH	504. 11	102. 69	79, 06
n	11	9	10
t		12, 30	13, 25
P		< 0, 001	< 0, 001
ADH	42, 98	12, 11	9, 22
n	11	12	12
t		14, 93	14, 43
P		< 0, 001	< 0, 001
PFA	199, 35	55, 68	34, 92
n	11	11	12
t		10, 13	11, 48
P		< 0, 001	< 0, 001
GPT	809, 86	313, 18	244, 12
n	11	10	12
t		11, 63	11, 45
P		< 0, 001	< 0, 001
GDH	334, 17	104, 63	48, 13
n	10	8	12
t		6, 98	6, 69
P		< 0, 001	< 0, 001
ALD	331, 65	332, 03	287, 99
n	11	12	12
t		-	1, 62
P		-	-

Fortsetzung Tabelle 5:

	Leerwert	96-120 Std. p. o.	144-168 Std. p. o.
HK	531,27	400,76	283,16
n	11	8	12
t		0,36	3,54
P		-	< 0,01
PGK	13210,99	6054,83	5191,29
n	11	10	12
t		9,47	9,38
P		< 0,001	< 0,001

ABBILDUNG 1

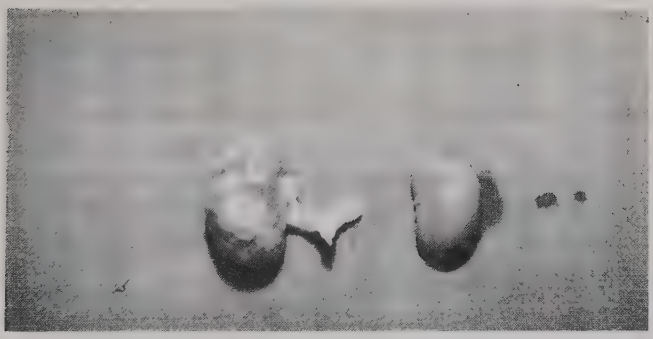

ABBILDUNG 2

Abbildung 1 zeigt das Nierenpaar einer Ratte nach Unterbindung des linken Harnleiters und nachfolgender intravenöser Applikation einer Suspension von Escherichia Coli (4. Krankheitstag).
Abbildung 2 zeigt das Nierenpaar einer Ratte nach Unterbindung des linken Harnleiters und nachfolgender intravenöser Applikation einer Suspension von Escherichia Coli (7. Krankheitstag).

IV. BESPRECHUNG

DER ERGEBNISSE

Die vergleichenden Untersuchungen von Enzymaktivitäten in Geweben verschiedener Art haben während der letzten Jahre zur Aufstellung von Enzymaktivitätsmustern geführt.

In der uns zugänglichen Literatur findet sich kein Hinweis auf Untersuchungen von Enzymaktivitäten im Serum und Nierengewebe von Versuchstieren, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt waren. Mit diesen Untersuchungen beschäftigt sich die vorliegende Arbeit.

Im Tierexperiment wurde ein Krankheitsbild hervorgerufen, das mikroskopisch und makroskopisch der akuten Pyelonephritis des Menschen gleicht. In dieser Arbeit wird das Krankheitsbild als infizierte Harnstauungsniere bezeichnet.

1) Die infizierte Harnstauungsniere bei der Ratte

In den ersten tierexperimentellen Versuchen gelang es uns nicht, durch Injektion von Escherichia coli (400 - 800 Millionen Keime pro ml) allein, eine Infektion des Nierenparenchyms hervorzurufen. In der Zeit von 96 bis 200 Stunden nach der Injektion der Keime waren weder makroskopisch noch mikroskopisch entzündliche Veränderungen an den Nieren festzustellen.

Dieses Ergebnis war zu erwarten. Die in der Literatur angegebene Zahl der Versuche, nur mit Hilfe einer Bakterieninjektion eine Entzündung des Nierenparenchyms hervorzurufen, ist nicht sehr groß. Sehr zahlreich dagegen sind die Experimente, in denen versucht wird, durch Infektion in Verbindung mit einer Harnstauung oder mit Hilfe anderer Maßnahmen dieses Krankheitsbild zu erzeugen. Im Tierexperiment scheinen für das Entstehen einer akuten Pyelonephritis zwei Bedingungen unerläßlich zu sein:
Druckanstieg im Nierenbecken infolge Harnstauung und Infektion.

BRAUDE und SHAPIRO (1955) gelang es ohne Harnstauung, nur durch intracardiale Applikation von Escherichia coli und anschließender Nierenmassage durch die Bauchdecken (ca. 5 Minuten lang) eine Pyelonephritis entstehenzulassen. Die nicht massierten Nieren zeigten auch bei diesem Versuch keine entzündlichen Veränderungen. Es ist nicht geklärt, ob die durch die Nierenmassage gesetzte Gewebsschädigung oder die vermehrte Durchblutung mit infiziertem Blut, für das Entstehen der Pyelonephritis eine ursächliche Bedeutung haben.

Die Arbeiten von MALLORY (1940) befassen sich unter anderem mit dem Entstehen der Pyelonephritis. Das Krankheitsbild wird durch Harnstauung und Injektion

pathogener Keime hervorgerufen. Die Harnstauung wird durch Ureterligatur erzeugt.

HEPTINSTALL und GORILL (1955), GUZE und BEESON (1956) beschreiben die Methode der totalen, zeitlich befristeten Ureterligatur in Verbindung mit einer Injektion pathogener Keime. Die Ureterligatur wurde nach 24 Stunden geöffnet, um das Entstehen einer Pyonephrose zu vermeiden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Methode der totalen Ureterligatur zur Erzeugung einer Harnstauung verwendet. Die Infektion wurde durch Injektion von Escherichia coli gesetzt. Da sich die Untersuchungen nur bis zu einem Zeitraum von 168 Stunden nach dem operativen Eingriff erstreckten, war das Entstehen einer Pyonephrose nicht zu befürchten.

a) bakteriologische Untersuchung

Die Abstriche der Nierenschnittflächen wurden bakteriologisch untersucht. Die dabei gefundenen Colibakterien entsprachen, wie zu erwarten war, dem injizierten Stamm.

b) makroskopische Veränderungen

Die kontralaterale gesunde Niere war in jedem Fall makroskopisch unauffällig. Auch das entspricht den in der Literatur angegebenen Befunden.

Die linken Nieren waren infolge der Ureterligatur durch Harnstauung vergrößert. Sie zeigten gelbliche teils stecknadelkopfgroße leicht erhabene Flecke.

c) mikroskopische Veränderungen

Mikroskopisch zeigten die nicht unterbundenen Nieren trotz Injektion von Escherichia coli keine entzündlichen Veränderungen. Auch dieser Befund war zu erwarten, da, wie in der Literatur angegeben und nach den Ergebnissen eigener tierexperimenteller Untersuchungen, durch Injektion von Escherichia coli allein keine Veränderungen im Sinne einer akuten Pyelonephritis zu erwarten war.

Das mikroskopische Bild der makroskopisch schon veränderten Nieren glich dem, das man bei der akuten menschlichen Pyelonephritis sieht.

2) Untersuchungen im Serum und Nierenhomogenat

Die Messungen der Enzymaktivitäten ganzer Organe berücksichtigt nicht, daß der histologische Aufbau dieser Organe sehr heterogen ist. Die Enzymaktivitäten können in den verschiedenen Zelltypen stark variieren und so ein verzerrtes Bild bei der Aufstellung von Enzymmustern ganzer Organe geben.

Diese Tatsache ist bekannt. Daß trotzdem das Homogenat aus Nierenrinde und

Nierenmark gewonnen wurde, ist auf die Schwierigkeit, Rinde und Mark exakt zu trennen, zurückzuführen. Für unsere Untersuchungen genügte aber auch die Bestimmung der Enzymaktivitäten im Nierenhomogenat insofern, da es darauf ankam, zu erfahren, ob sich bei dem Krankheitsbild der infizierten Harnstauungsniere der Enzymgehalt gegenüber der gesunden Niere verändert und ob ein Anstieg oder eine Abnahme der Enzymaktivitäten im Serum zu verzeichnen war.

Die Untersuchungen der Enzymaktivitäten wurden in einem Zeitraum von 96 bis 168 Stunden nach dem Anlegen der Ureterligatur und der Injektion von Escherichia coli durchgeführt. Dieser Zeitraum wurde gewählt, da nach 96 Stunden p. o. makroskopisch an den Nieren eine deutliche Veränderung zu sehen war. 168 Stunden nach dem operativen Eingriff zeigten sich meist zahlreiche Abscesse. Zu einem späteren Zeitpunkt war die Vereiterung des Nierengewebes in den meisten Fällen soweit fortgeschritten, daß es zur Bereitung von Homogenat nicht mehr geeignet erschien.

Das untersuchte Enzymspektrum umfaßt die drei von BÜCHER definierten Lokalisationstypen:

1) Praktisch rein cytoplasmatische Enzyme (Enzyme der Glykolyse, des Hexosemonophosphat Shunt, des Pentosephosphatzyklus sowie GPT des Aminosäurestoffwechsels)

2) ein rein mitochondriales Enzym (GLDH)

3) Enzyme, die im cytoplasmatischen wie im mitochondrialen Raum vorkommen (die Enzyme des Citratzyklus sowie GOT)

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten 18 Enzyme im Serum und Nierenhomogenat von Ratten, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt waren, entsprechen den obengenannten Enzymtypen.

Bei der infizierten Harnstauungsniere kommt es zu einem massiven Verlust von Makromolekülen, wie es die Enzymproteine sind, aus dem Nierengewebe. Ein Anstieg dieser Enzyme im Serum konnte aber nicht beobachtet werden.

Die in der Literatur beschriebenen Veränderungen der Enzymaktivitäten im Serum bei verschiedenen Krankheitsbildern, die charakteristisch sind, wie z. B. bei Herzinfarkt und bei der akuten und chronischen Hepatitis (HESS 1955; SCHMIDT et al. 1960; HENLEY et al. 1960) konnten im Serum der Ratte bei infizierter Harnstauungsniere nicht beobachtet werden.

Es ist nicht bekannt, ob die nicht exakt meßbaren Enzyme im Serum (mit Werten unter 1 BE) sich nur dem Nachweis entziehen, weil sie im Serum instabil sind

oder weil die angewendeten Methoden nicht empfindlich genug sind (WROBLEWSKI und La DUE 1956; SCHMIT et al. 1958). Instabil im Serum ist besonders G-6-PDH, das Zwischenferment WARBURGs. SCHMIDT et al. (1958) konnten nachweisen, daß dieses Enzym im extrazellulären Raum rasch inaktiviert wird.
Schon im gesunden Organismus läßt sich im Blut ziemlich konstant die Konzentration einer Reihe von Enzymen nachweisen. Diese Enzyme stammen aus den Körperzellen, aus denen sie durch die Zellmembran in den extrazellulären Raum gelangen. Über die physiologische Bedeutung der Serumenzyme weiß man bisher kaum etwas. Das Besondere dieser Enzyme besteht darin, daß sie infolge Fehlens ihrer Coenzyme und in den meisten Fällen ihrer Substrate außerhalb der Zelle keine eigentliche Funktion ausüben und nicht in den extrazellulären Stoffwechsel wirken können. Als Ursache ihres Vorhandenseins im Serum darf man vielleicht die "physiologische Undichte" der Zellmembran ansehen (HESS 1957). Bei verschiedenen Krankheiten kommt es zu einer Erhöhung der Aktivität bestimmter Serumenzyme, die für einige pathologische Zustände ganz charakteristisch ist (WROBLEWSKI und La DUE 1955; SCHLIEF und KAMM 1957).

Zahlreiche Untersuchungen wurden durchgeführt, um die Ursachen der Konzentrationsänderungen der Serumenzyme zu erklären. Von verschiedenen Arbeitsgruppen wurde im Tierexperiment gezeigt, daß nach Erzeugung eines akuten Leberschadens die Transaminasen im Serum ansteigen. Ähnlich wie im Tierversuch, wurde auch beim Menschen nach Chloroformvergiftung ein starker Transaminasenanstieg im Serum beobachtet (WARBURG und HIEPLER 1952). Schließlich finden sich auch bei der menschlichen Virushepatitis Aktivitätsänderungen der Serumtransaminasen und anderer Enzyme, die dem Auftreten des Ikterus längere Zeit vorausgehen (WROBLEWSKI und La DUE 1956).

Sinngemäß ähnliche Befunde wurden beim Herzinfarkt gefunden. Auch die Untersuchungen von SCHLIEF und KAMM bei Herzoperationen sprechen für die Abhängigkeit des Serumenzymspiegels von dem Ausmaß der dabei verursachten Herzmuskelschädigung.

Es besteht also offenbar eine enge Korrelation zwischen Ausmaß eines akuten Zellschadens und der Höhe des Serumenzymspiegels, welche zunächst auf einen einfachen Abstrom von Enzymen aus der zerstörten Zelle in das Blut zurückgeführt wurde. Als weiterer wesentlicher Faktor ist aber inzwischen die Bedeutung der Zellpermeabilität erkannt worden.

SCHMIDT und Mitarbeiter (1958) fanden einen Enzymaustritt aus Leberzylindern in den extrazellulären Raum ohne wesentliche weitere mikroskopisch sichtbare Zellschädigung.
Wie die Untersuchungen von SCHMIDT und Mitarbeitern (1961) an bioptisch gewonnenen Leberzylindern bei akuter Hepatitis zeigen, liegt in der Leber nicht

immer eine Verminderung der im Serum in erhöhten Konzentrationen nachweisbaren Enzyme vor, sondern es kann auch gleichzeitig eine Erhöhung der Enzymkonzentrationen in der Leber und im Serum auftreten. Ob diese Unterschiede durch eine Inaktivierung (Proteolyse ?) bereits gebildeter und/oder Zerstörung der Enzymmatritze einerseits und Aktivierung bestimmter enzymatischer Vorgänge und/oder Aktivierung von Vorstufen andererseits durch das Hepatitisvirus oder anderer Noxen verursacht werden, läßt sich vorläufig noch nicht sicher entscheiden.

a) Transaminasen
Glutamat - Oxalacetat-Transaminase (GOT)
Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

Besonders zahlreich wurde das Verhalten der Transaminasen untersucht, z. B. der Anstieg der Transaminasen im Serum bei Patienten mit Myocardinfarkt (WROBLEWSKI et al. 1955; AMELUNG et al. 1958). In der Frühdiagnose des Herzinfarktes läßt sich der Transaminase-Test in ca. 95 % der Fälle verwenden (ABDERHALDEN 1958). Die Menge des ausgeschwemmten Enzyms ist dabei von der Größe des Infarktes abhängig. Im Tierversuch wurde der Erweis gebracht, daß die Transaminasen aus dem Herzmuskel stammen. Der Enzymgehalt des Gewebes im Infarktbereich war um ca. 50 % erniedrigt.

Eine Zunahme der Transaminasen im Serum findet sich auch bei Erkrankungen anderer Organe, deren Zellen reich an diesen Enzymen sind, z. B. bei der akuten Pancreatitis (CHINSKY und SHERRY 1957).

Bei Erkrankungen der Leber treten große Transaminasemengen in das Blut über (WROBLEWSKI und La DUE 1956; AMELUNG und Mitarbeiter 1958; SCHMIDT et al. 1958). Bei Erkrankungen der Leber sind sowohl GPT als GOT im Serum erhöht, dagegen ist beim Herzinfarkt nur bei sehr großer Ausdehnung des Infarktgebietes ein geringer Anstieg der GPT im Serum vorhanden. Der Herzmuskel enthält nur wenig GPT.

Einen Anstieg der Transaminasen zeigt sich bei der akuten Dermatomyositis (PEARSON 1957). Bei anderen Muskelerkrankungen konnte kein Anstieg dieser Enzyme im Serum festgestellt werden, auch wenn diese mit ausgedehnten Muskelatrophien einhergingen.
DUNN et al. (1958) finden nach Ureterenligatur und bei akuter Niereninsuffizienz keinen Anstieg der Transaminasen im Serum. Unsere Befunde stimmen mit diesen Ergebnissen nur insofern überein, als auch im Rattenserum bei infizierter Harnstauungsniere kein Anstieg der GPT zu beobachten war.

Jedoch überrascht die Abnahme der GOT-Aktivität im Serum der erkrankten Ratten im Vergleich zur Aktivität der GOT im normalen Rattenserum. Die Veränderung ist statistisch hochsignifikant, P ist kleiner als 0,001.

Im Homogenat der erkrankten Nieren ist nämlich ebenfalls eine hochsignifikante Verminderung, P kleiner als 0.001, der GOT-Aktivität vorhanden.

GERLACH und SCHÜRMEYER (1959) finden bei der experimentell geschädigten Niere (Nephrose) ebenfalls eine Abnahme der GOT-Aktivität im Nierenhomogenat. Aus ihren Untersuchungen geht ferner hervor, daß das Enzym GOT in der Niere praktisch über Rinde und Mark gleichmäßig verteilt ist.

SCHMIDT und Mitarbeiter (1960) finden im menschlichen Nierengewebe folgende Werte der GOT-Aktivität:
Nierenmark = 451 BE, Nierenrinde = 580 BE. Im Nierenhomogenat der gesunden Ratte beträgt die GOT-Aktivität 2144 BE, es findet sich keine Übereinstimmung mit den obengenannten Werten. Anders verhält es sich, wenn man die spezifischen Aktivitäten vergleicht (Einheiten pro mg Protein in 1 g Frischgewebe). SCHMIDT gibt für Nierenmark 9,5 BE und für Nierenrinde 10,5 BE an. Im Nierenhomogenat der Rattenniere beträgt die spezifische Aktivität 20,44 BE.

Die festgestellte Verminderung der GOT-Aktivität im Nierenhomogenat, die in dem System α-Ketoglutarsäure/L Glutaminsäure als NH_2 Überträger für die Niere eine wesentliche Bedeutung besitzt, kann als echte Schädigungsfolge angesehen werden, weil die geschädigten Nierenzellen die Fähigkeit zur Synthese oder Fixation bestimmter Enzyme bereits verloren haben.

Mit einer fehlenden Syntheserate würde sich die Verminderung der GOT-Aktivität im Serum der kranken Ratte erklären lassen.

Ähnlich verhält es sich mit dem Enzym GPT. Die Verminderung der GPT-Aktivität im Nierenhomogenat kranker Tiere im Vergleich zur GPT-Aktivität im Nierenhomogenat gesunder Tiere ist hochsignifikant. Die GPT Aktivität im Serum der kranken Ratte verhält sich wie die im Serum der gesunden Ratte.

Daß die GPT Aktivität beim erkrankten Tier der Aktivität beim gesunden Tier entspricht, die GOT Aktivität im Serum des kranken Tieres aber vermindert ist, läßt sich nicht mit der unterschiedlichen Lokalisation der beiden Enzyme in der Zelle erklären. Die GPT findet sich fast ausschließlich im Cytoplasma der Zelle, danach wäre zu erwarten, daß die GPT Aktivität schon bei geringer Zellschädigung vermehrt im Serum auftritt.

Vielleicht könnte das Fehlen einer Aktivitätserhöhung von GOT und GPT im Serum der an infizierter Harnstauungsniere erkrankten Ratte auf eine Denaturierung der Enzyme zurückzuführen sein (SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT 1960), wie z.B. bei der Koagulationsnekrose, bei der durch Säureeinwirkung mit der Denaturierung der Eiweißkörper auch eine Diffusion der enzymatischen aktiven Proteine unterbleibt.

Die Bestimmungen der Enzymaktivität sowohl im Serum als auch im Nierenhomogenat

der an infizierter Harnstauungsniere erkrankten Ratten zeigen, in den Konzentrationen der Aktivitäten in Homogenat und Serum bestehen beträchtliche Unterschiede. Von BÜCHER (1959) wurden die Unterschiede unter dem Aspekt einer Verzerrung des organeigenen Enzymmusters bei Austritt der Enzyme aus den Zellen durch die unterschiedlichen Inaktivierungsraten im extrazellulären Raum diskutiert.

Noch ist die Enzyminaktivierung nicht recht klar. Eine Ausscheidung durch die Niere erfolgt wahrscheinlich nicht.

b) Aldolase (ALD)

Die von uns gefundenen Werte der ALD Aktivität im Nierenhomogenat der gesunden Ratte liegen ca. 50 % höher als die Werte, die STAVE (1960) im Nierenhomogenat von Kaninchen bestimmte. Auch die von SCHMIDT (1960) angegebenen ALD Aktivitätswerte im Homogenat von Nierenrinde und Nierenmark beim Menschen sind niedriger als unsere Werte.

Die ALD, ein Enzym des oxydativen Stoffwechsels, ist bezüglich ihrer Aktivität in der erkrankten Niere weniger betroffen. Im Nierenhomogenat zeigt sich eine geringfügige Abnahme der Aktivität, die statistisch nicht signifikant ist. Im Serum des kranken Tieres zeigt sich eine statistisch signifikante Aktivitätsabnahme der ALD. Da die Aldolase ein reines Enzym des Cytoplasmas ist, wäre ein Übertritt in den extrazellulären Raum schon bei geringgradiger Permeabilitätsstörung zu erwarten, im Serum zeigt sich jedoch eine Verminderung der ALD Aktivität. Diese Reaktion weist wieder auf einen Inaktivierungsprozeß, wobei leider nicht gesagt werden kann, wo und in welcher Weise dieser vor sich geht.

Aldolase ist in Nierenrinde und Mark im Vergleich zu anderen Enzymen nur in geringem Maße vorhanden. Sie hat von allen Enzymen der Glykolyse die kleinste Wechselzahl und ihre Bedeutung dürfte darin zu sehen sein, daß sie in der glykolytischen Enzymkette normalerweise als das geschwindigkeitsbestimmende Enzym fungieren kann (HESS 1958).

Diese, wenn auch nur geringfpgige Abnahme der ALD Aktivität kann auf eine gestörte Glykolyse hinweisen.

c) Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase (GAPDH)

Unsere GAPDH Aktivitätswerte im Nierenhomogenat der gesunden Ratte sind niedriger als die von anderen Autoren beschriebenen Werte in Nierenrinde und Nierenmark (SCHMIDT et al. 1960).

Die GAPDH ist ein Enzym des Cytoplasmas. Seine Aktivität ist in der erkrankten Niere statistisch signifikant erniedrigt.

GAPDH ist in der Leber in hoher Aktivität nachweisbar, in der Niere ist dieses Enzym in noch weit höherem Maß vorhanden (SCHMIDT 1960). Die Aktivitätsverluste der GAPDH in der kranken Niere im Vergleich zu den Aktivitätswerten im Nierenhomogenat der gesunden Nieren scheinen auf der Zerstörung der Zellschranken in den erkrankten Nieren zu beruhen. Es zeigt sich nämlich ein geringgradiger, statistisch nicht signifikanter Anstieg der Serum GAPDH. Da, wie schon erwähnt, die Niere eine besonders hohe Konzentration der GAPDH aufweist, könnte man annehmen, daß das vermehrt im Serum auftretende Enzym aus der geschädigten Niere stammt. Die GAPDH hat im extrazellulären Raum eine große Instabilität, man kann daraus schließen, daß es zu einer massiven Ausschüttung des Enzyms in den Extrazellulärraum kommt, wo es sehr schnell inaktiviert wird.

d) Phosphoglycero-Kinase (PGK)

In der uns zugänglichen Literatur waren keine Angaben über Enzymwerte der PGK Aktivität im Nierengewebe zu finden.

Die PGK Aktivität im Gewebe der infizierten Harnstauungsniere ist gegenüber der PGK Aktivität im Nierengewebe gesunder Ratten hochsignifikant vermindert. Auch im Serum der kranken Tiere ist die PGK Aktivität im Vergleich zu dem Aktivitätswert dieses Enzyms bei gesunden Tieren hochsignifikatn erniedrigt.

Im Verlauf der Krankheit kommt es offensichtlich zu einer Schädigung der Mitochondrien. Nach unseren heutigen Kenntnissen garantiert aber die Struktur der cristae mitochondriales den Vorgang der Atmungskettenphosphorylierung, ihrer Zerstörung geht der Verlust an Phosphorylierung parallel.

Wahrscheinlich weisen die Abnahme der PGK Aktivität im Serum und Nierenhomogenat der kranken Tiere auf eine veränderte Situation im Phosphathaushalt hin. Für den Energiezustand des Stoffwechsels ist das Verhältnis zwischen dem Gehalt an Gesamtphosphat und anorganischem Phosphat wichtig.
MATOUSCHEK (1963) fand es im Serum der urämischen Ratte auf die Seite des anorganischen Phosphats verschoben, was für einen gestörten Einbaumechanismus von anorganischem Phosphat in organische Bindung sowie für einen herabgesetzten Phosphattransport in das Zellinnere spricht. Das Einschleusen anorganischen Phosphats in organische Bindung geschieht, wenn man von der phosphorylierten Spaltung des Glykogens absieht, über den Abschnitt der Glykolyse, der von GAPDH und PGK katalysiert wird.

e) Pyruvat-Kinase (PK)

SCHMIDT (1960) fand in Nierenmark und Nierenrinde höhere Aktivitätswerte für das Enzym PK als wir sie im Nierenhomogenat fanden.
Die PK Aktivität ist im Gewebe der infizierten Harnstauungsniere signifikant erhöht. Die Aktivität der Serum-PK kranker Tiere zeigt im Vergleich zur Serumakti-

vität der PK gesunder Tiere eine hochsignifikante Abnahme. Die PK hat im Normalserum einen relativ hohen Spiegel. SCHMIDT (1958) fand bei Lebererkrankungen ein ähnliches Verhalten der Pyruvat Kinase.
Bei seinen Untersuchungen im Serum fand er, daß die PK Aktivität im Gegensatz zu allen anderen von ihm gemessenen Enzymen, absank. SCHMIDT nimmt nun an, daß es sich bei der PK um ein Enzym handelt, das ähnlich wie es für die Cholinesterase vermutet werden kann, in der Leber gebildet, ausgeschieden und im Serum als "Transportform" nachgewiesen wird.

f) Malat-Dehydrogenase (MDH)

Die Aktivitätswerte des Enzyms MDH betragen beim Menschen in der Nierenrinde 5744 BE, in dem Nierenmark 2688 BE (SCHMIDT 1960). Wir haben im Nierenhomogenat der gesunden Ratte eine MDH Aktivität von 13 827 BE gemessen.

In der Nierenrinde erreicht die Konzentration der Malat-Dehydrogenase die höchsten bisher in Säugetierorganen beobachteten Werte (RICHTERICH 1962). Sie ist viermal so hoch als in Gehirn und in der Leber. Auch bei unseren Enzymmessungen im Nierenhomogenat zeigt die MDH Aktivität mit 13 827 BE den höchsten Wert. Im Nierenmark liegen die Werte der MDH in der Größenordnung der Aktivitätswerte von Leber und Gehirn.

MDH spielt im oxydativen Stoffwechsel eine wesentliche Rolle. Die alte Beobachtung, wonach die Nierenrinde von allen Säugetierorganen die höchste Sauerstoffaufnahme aufweist, steht damit in guter Übereinstimmung. In diesem Nierenteil spielen sich Rückresorptions- und Sekretionsvorgänge ab. Wahrscheinlich stammt die dazu benötigte Energie aus dem oxydativen Stoffwechsel. Im Gewebe der infizierten Harnstauungsniere sinkt die MDH Aktivität signifikant ab. Der MDH Gehalt der nicht erkrankten Niere im gleichen Tier bleibt im Bereich der Norm. Der Serumenzymspiegel der MDH ist bei den erkrankten Ratten hochsignifikant erniedrigt.

Bei der Hepatitis finden SCHMIDT und Mitarbeiter (1962) keine wesentliche Änderung der MDH Aktivität in der Leber, die Serum MDH steigt aber beträchtlich an. Erhöhte MDH Aktivitäten im Serum fanden sich außer bei Hepatitis auch beim Herzinfarkt, Lungeninfarkt und akuter Nephritis (ENGELHARDT-GÖLKEL 1958). Bei diesen Krankheitsbildern konnten die Autoren gewisse Zusammenhänge zwischen der Schwere des Krankheitsbildes und der Höhe des MDH Wertes aufzeigen.
Hohe Werte der MDH Aktivität fanden sich auch im Serum bei Leukämie und gewissen Formen von Anämien, die bei diesen Krankheiten im Überschuß auftretenden Enzyme entstammen den Blutzellen, es ist denkbar, daß letztere auch unter physiologischen Bedingungen als Enzymquellen anzusehen sind (ENGELHARDT-GÖLKEL (1958)). Dafür spricht der Befund, wonach der Gehalt des Milzvenenblutes an MDH erhöht ist. Ein ähnliches Verhalten wie es die MDH Aktivität in

Niere und Serum der Ratte bei infizierter Harnstauungsniere zeigt, haben die Werte der Leber MDH bei einer Infektion mit Pasteurellenkultur (HAUSS und LEPPELMANN 1957). Hierbei kommt es zu einem signifikanten Aball der MDH Aktivität in der Leber (die Serum MDH wurde nicht gemessen). Zu einem Anstieg der MDH Aktivität in der Leber kommt es aber bei der experimentellen Intoxikation mit Typhusvaccine.

Bei den Infektionskrankheiten sind erhebliche Änderungen des Stoffwechsels bekannt. Der Sauerstoffverbrauch wird erhöht, der Eiweißabbau ist vermehrt, die Stickstoffbilanz wird negativ.

g) Hexokinase (HK)

Die von SCHMIDT (1960) angegebenen Werte der HK Aktivität von 117 BE in Nierenrinde und 59 BE im Nierenmark weichen stark von den von uns gemessenen HK Werten im Nierenhomogenat gesunder Ratten ab. Wir haben eine Enzymaktivität von 531 BE gemessen.

Über herabgesetzte HK Werte im Vollblut (ohne Puffersubstanz) chronisch Nierenkranker z. B. bei chronischer Pyelonephritis, chronischer Glomerulonephritis, berichten BOCK und Mitarbeiter 1962. Nach Meinung des Autors dürfte der Einfluß stickstoffhaltiger Metabolite auf die HK Aktivität gering sein. Dagegen führt eine pH-Verschiebung von7, 4 auf 7, 2 zu einem Aktivitätsverlust des Enzyms von 40 %. Da unsere Enzymbestimmungen aber in gepufferten Testansätzen ausgeführt wurden, scheidet diese Interpretationsmöglichkeit des erniedrigten HK Aktivitätswertes im Serum von an infizierter Harnstauungsniere erkrankten Ratten aus.

WIEBELHAUS und LARDY (1949) weisen darauf hin, daß die Na Ionen die Glucosephosphorylierung in Rinderhirnextrakten hemmen. Die infolge Elektrolytverschiebungen erhöhte Natriumkonzentration der Zelle könnte primär die intrazelluläre HK Aktivität herabsetzen und dadurch die Abgabe des Enzyms in die extrazelluläre Flüssigkeit verringern.

Im Nierengewebe der Ratte ist bei der infizierten Harnstauungsniere die HK Aktivität hochsignifikant vermindert.

Wie im Tierexperiment an Ratten demonstriert werden kann, bleibt nach beidseitiger Ureterenligatur der HK Spiegel im Serum zunächst unverändert (MATOUSCHEK 1963). Erst am 3. Tag nach dem Eingriff kommt es zu einer Abnahme des Enzyms. Demnach scheint normales Nierengewebe einen Einfluß auf die Hexokinasekonzentration des Plasmas auszuüben. Wahrscheinlich sind vor allem die Nieren für die Anwesenheit der HK im Serum verantwortlich. HK phosphoryliert das Glucosemolekül, das in die Zellen eintreten soll. Eine Herabsetzung der Enzymkonzentration bedeutet also eine Reduzierung der Glucoseeinschleusung und als Folge hiervon ein Absinken der glykolytischen Durchflußrate sowie die Bildung energiereicher Phosphate.

h) Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH)
6-Phospho-Gluconat-Dehydrogenase (6-PGDH)

G-6-PDH, das Zwischenferment O. WARBURGs, ist im Serum instabil. SCHMIDT et al. (1958) konnten nachweisen, daß das Enzym im extrazellulären Raum rasch inaktiviert wird. Auch 6-PGDH tritt nicht im Serum auf.

Im Serum von Ratten, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt sind, zeigen sich keine meßbaren Aktivitätsänderungen dieser beiden Enzyme.

Auffallend ist der Anstieg der rein cytoplasmatischen Enzyme 6-PGDH um ca. 60 % und noch stärker der G-6-PDH um über 100 % im Nierenhomogenat der erkrankten Tiere. Es könnte sich hierbei um eine echte Aktivitätszunahme der 6-PGDH und G-6-PDH handeln, und damit ein stärkerer Durchsatz des Pentosephosphatcyclus (WARBURG-DICKENS-HORECKER)zum Ausdruck kommen, der durch direkte Glucoseoxydation den (gestörten ?) Embden-Meyerhof-Weg umgeht und funktionell ersetzt.
(Der vollständige Abbau der Glucose zu CO_2 und TPNH + H^+ ist als WARBURG-DICKENS-HORECKER-Schema oder Pentosephosphatcyclus bekannt. Das ist aber sicher nicht der Hauptweg der Glucose im Organismus. Seine größte Bedeutung dürfte in der Produktion der TPNH liegen, die für Synthesen gebraucht wird.
Beim Abbau der Glucose über die Gykolyse, die den Hauptteil der Glucose verbraucht, entsteht nur DPNH (EMBDEN-MEYERHOF-Schema).

Ähnliche Ergebnisse finden SCHMIDT et al. (1958) bei der Hepatitis, nämlich einen Anstieg der 6-PGDH und G-6-PDH in der Leber, aber keinerlei Veränderungen dieser Enzyme im Serum.

NAGANO et al. (1963) finden in ihren Untersuchungen über die Enzymaktivität in der Niere bei Hypokaliämie eine Zunahme der G-6-PDH, das Zwischenferment G-6-PDH aber nimmt ab. Sie deuten es als Ausdruck einer gesteigerten Gluconeogenese.

i) Isocitrat-Dehydrogenase (ICDH)

Die bei unseren Untersuchungen gemessenen Aktivitäten im Nierenhomogenat des Enzyms ICDH liegen wesentlich höher als die von SCHMIDT (1960) angegebenen Werte in Nierenrinde und Nierenmark.

Die Isocitrat Dehydrogenase überträgt den Wasserstoff der Isocitronensäure auf DPN^+ oder TPN^+ und katalysiert gleichzeitig die (reversible) Decarboxylierung der ß-Ketosäure (Oxalbernsteinsäure).

Bei den an infizierter Harnstauungsniere erkrankten Ratten kommt es am 4. - 5. Krankheitstag zu einem starken hochsignifikanten Anstieg der stark an die

Mitochondrien gebundenen ICDH Aktivität in der Niere. Am 6. - 7. Krankheitstag fällt in der erkrankten Niere ein Verlust des ICDH Wertes um ca. die Hälfte des Wertes in den ersten Krankheitstagen auf. Dieser Wert entspricht aber immer noch einer 100 % Steigerung der ICDH Aktivität gegenüber dem Wert in der gesunden Niere. Im Serum kommt es zu einem geringgradigen Abfall der ICDH Aktivität während der Erkrankung.

j) Glutaminsäure-Dehydrogenase (GSDH)

Die von SCHMIDT (1960) angegebenen GSDH Aktivitäten im Nierenmark 120 BE und in der Nierenrinde 365 BE stimmen annähernd mit den von uns gefundenen Werten der ICDH Aktivität im Nierenhomogenat von Ratten überein.

In der erkrankten Niere findet sich eine Abnahme der GSDH Aktivität um über 100 %. Da die Serum-Aktivität der GSDH unter einer BE liegt, gilt sie als nicht exakt meßbar.

SCHMIDT und Mitarbeiter finden (1959) ein ähnliches Ergebnis bei der akuten Hepatitis. Da die GSDH ausschließlich in den Mitochondrien lokalisiert ist, suchten sie nach einem Zusammenhang zwischen der Mitochondrienschädigung und der Aktivität dieses Enzyms. Sie fanden ein grundsätzlich gleiches Verhalten bei der Lösung des Enzyms aus der mitochondrialen Bindung während und nach akuter Hepatitis, was sie zu dem Schluß kommen läßt, daß sie mit der Bestimmung der GSDH den strukturell noch weitgehend intakten Anteil an Mitochondrien erfassen, und daß so die Differenzen in den Gesamtaktivitäten auf den Umfang der Schädigung des Chondriums der Parenchymzellen schließen lassen. Sie berichten weiter, daß Untersuchungen ergeben haben, daß die Menge der jeweils vorhandenen Mitochondrien, also die Größe des Chondrioms, einen brauchbaren Maßstab für die Intensität der energieliefernden Prozesse abgibt, zu denen die betreffende Zelle imstande ist.
Die sich aus der starken Aktivitätsabnahme der GSDH anzeigende Reduktion der Leistung des Chondrioms zeigen auch andere Untersuchungen bei der Virus Hepatitis der Maus, wobei eine Verminderung der oxydativen Phosphorylierung nachgewiesen werden konnte.

Überträgt man diese Schlußfolgerungen auf die GSDH Aktivität der Niere, wenn eine infizierte Harnstauungsniere vorliegt, so müßte auch hierbei eine Störung der oxydativen Phosphorylierung vorliegen.

HAUSS und LEPPELMANN (1957) finden bei der Intektion mit Typhus Vaccine und Diphtherie Toxin einen signifikanten Abfall der GSDH Aktivität in der Leber, eine Erklärung für dieses Verhalten finden sie nicht.

k) Enolase (ENO)

Die von SCHMIDT (1960) angegebenen Aktivitätswerte der ENO in Nierenrinde und Nierenmark sind weitaus kleiner als die von uns gemessenen Aktivitäten dieses Enzyms im Nierenhomogenat.

Die Verminderung der Enolase Aktivität im Nierengewebe von Ratten, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt sind, ist hochsignifikant. Die Serum-Enolase zeigt keinerlei Veränderung beim Vergleich mit der Serum Enolase des gesunden Tieres.

l) Sorbit Dehydrogenase (SODH)

Auch bei diesem Enzym sind die von uns gemessenen Aktivitäten im Nierenhomogenat weitaus höher als die von SCHMIDT (1960) angegebenen SODH Aktivitäten.

Im menschlichen Organismus hat die Leber den größten Gehalt an SODH. An zweiter Stelle folgt die Niere. Ähnlich verhält es sich mit dem SODH Gehalt der Rattenorgane. Im Serum des gesunden Menschen ist keine meßbare SODH Aktivität enthalten. Erst bei Leberzellschädigung (infektiöser, toxischer oder hypoxischer Art) wird das Enzym im Serum nachweisbar, deshalb zeigt sein Auftreten im Serum praktisch in spezifischer Weise eine Leberzellschädigung an. Bei der infektiösen Mononucleose finden SCHMIDT und Mitarbeiter (1958) eine Verminderung der SODH Aktivität in der Leber.

Bei der akuten Harnstauungsniere kommt es zu einer statistisch hochsignifikanten Verminderung der SODH Aktivität in der erkrankten Niere. Im Serum des kranken Tieres zeigt sich keine meßbare SODH Aktivität.

m) Alkohol Dehydrogenase (ADH)

Bei der infizierten Harnstauungsniere der Ratte ist in der kranken Niere eine statistisch signifikante Abnahme der ADH Aktivität zu beobachten. Der Serum-Wert der ADH bleibt während der Erkrankung unverändert.

Einen ähnlich starken Abfall der ADH Aktivität beschreiben SCHMIDT und Mitarbeiter (1958) in der Leber bei akuter Hepatitis. Bei chronischen Lebererkrankungen beobachten sie einen Anstieg dieses Enzyms. Erst während des nekrotischen Schubes kommt es dann zu einem Abfall der ADH-Aktivität. Ihre Untersuchungen zeigen die Serum-ADH während der Erkrankung unverändert.

n) Phospho-Fruktaldolase (PFA)

Wiederum eine statistisch hochsignifikante Abnahme der Aktivität dieses Enzyms im kranken Nierengewebe. Die Serum-PFA-Werte bleiben unverändert.

o) α - Glycerophosphat Dehydrogenase (GDH)

Die von SCHMIDT (1960) gefundenen Werte im Nierenmark von 14 BE und in der Nierenrinde von 134 BE sind kleiner als die von uns gemessenen Aktivitätswerte im Nierenhomogenat von 334 BE.

Bei Ratten, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt sind, kommt es in der erkrankten Niere zu einer statistisch hochsignifikanten Verminderung der GDH-Aktivität in der erkrankten Niere. Auch im Serum ist die Abnahme dieses Enzyms bei den kranken Ratten statistisch signifikant.

Ähnliche Beobachtungen wurden von SCHMIDT und Mitarbeitern (1958) bei der akuten Hepatitis gemacht. Die Autoren finden folgende Interpretation für die Abnahme der GDH-Aktivität im Lebergewebe, die sich vielleicht auch auf die GDH-Minderung in der Niere bei infizierter Harnstauungsniere anwenden läßt.

Die gefundene starke Herabsetzung der GDH-Aktivität gewinnt durch die Ergebnisse des Arbeitskreises von BÜCHER, wie SCHMIDT feststellt, besonderes Interesse. Es konnte gezeigt werden, daß das von diesem Enzym gesteuerte System Dioxyacetonphosphat / α - Glycerophosphat Wasserstoff vom DPN / DPNH - System aufnimmt und, da das DPNH die Mitochondrienmembran nicht durchdringen kann, so der Wasserstoff über das α -Glycerophosphat aus dem extra- in den intramitochondrialen Raum gelangt. Hier kann der Wasserstoff durch eine sehr aktive Glycerophosphat-Oxydase dem α - Glycerophosphat wieder entzogen und der Endoxydation zugeleitet werden. Andererseits ist über die MDH, die den Wasserstoff von DPNH auf die Brenztrauensäure überträgt, mittels der leicht durch die Zellmembran dringenden Milchsäure- und Brentraubensäure-Ionen eine Koppelung der extramitochondrialen Räume der einzelnen Zellen und letztlich auch der verschiedenen Organe möglich.

So steigt bei der starken Abnahme der Aktivität der GDH der Quotient MDH/GDH an, und der Stoffwechsel wird den Typ der aeroben Gykolyse zeigen.

Die gleichzeitige Bestimmung der Enzymaktivitäten im Serum und im Nierengewebe von Ratten, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt waren, zeigen, daß beträchtliche Unterschiede im Verhältnis der Enzyme zueinander in Niere und Serum bestehen. Von BÜCHER (1959) wurden diese Unterschiede unter dem Aspekt einer Verzerrung des organeigenen Enzymmusters beim Austritt der Enzyme aus den Zellen und durch die unterschiedlichen Inaktivierungsraten im extrazellulären Raum diskutiert. SCHMIDT und Mitarbeiter (1959) weisen auf den Umstand, daß die verschiedenen Zellarten eines Organs nicht alle oder nicht im gleichen Ausmaß zum Enzymspiegel des Plasmas beitragen. Eine solche nur scheinbare Verzerrung ergibt sich aus den reaktiven Veränderungen des Enzymprofils der geschädigten Organe. Im zeitlichen Verlauf der Schädigung ändert sich mit der unterschiedlichen Neusyntheserate die Qualität des Enzymmusters der Gewebe als Prägungsstoff für das

Enzymverteilungsmuster des Serums. Obschon die meisten Enzyme in der Zelle im Überschuß vorliegen und als Schrittmacher für den Stoffwechsel bedeutungslos sind, so darf doch aus der quantitativen Verteilung der Enzyme in bestimmten Räumen Hinweise auf das Vorherrschen einzelner Stoffwechselwege erwartet werden (RICHTERICH und FRANZ 1961). Von diesen Autoren wurden beträchtliche Unterschiede in der Verteilung einiger Enzyme in Nierenmark und Nierenrinde nachgewiesen. In der Nierenrinde fallen hohe Konzentrationen der Enzyme G-6-PDH, MDH und ICDH auf, es sind Enzyme, die im oxydativen Stoffwechsel eine Rolle spielen. Im Nierenmark beobachten sie mit einer geringeren Aktivität der Enzyme ICDH und MDH sowie einer niedrigeren Aktivität der ALD ein Enzymmuster, wie es für aerob glykolysierende Gewebe, etwa für Tumoren, typisch ist. Das Nierenmark unterscheidet sich durch seine hohe aerobe Glykolyse wesentlich von der Nierenrinde.

Die Nierenfunktion ist vielseitig (Rückresorptions- und Sekretionsvorgänge in der Nierenrinde, der Transfer von Elektrolyten im Nierenmark) dazu sind beträchtliche Energiemengen erforderlich. Die Tatsache, daß die Niere den absolut höchsten O_2-Verbrauch unter den Organen aufweist, läßt auf einen vorwiegend oxydativen Energiestoffwechsel schließen. Als wichtigster Energiedonator kommt hierfür ATP in Betracht. Es ist ein allgemein akzeptiertes Ergebnis der biochemischen Forschung, daß die aus den Prozessen der Atmung und Glykolyse gewonnene Energie in der Zelle hauptsächlich in Form energiereicher Phosphatverbindungen gestapelt wird (FLECKENSTEIN 1960).

Da die oxydativen Phosphorylierungsvorgänge an die entsprechenden, nur in den Mitochondrien lokalisierten Enzyme gebunden sind, dürften diese in den mitochondrienreichen, rindenwärts gelegenen Abschnitten der Tubuli erwartet werden (GÖGGEL und Mitarbeiter 1961). Die besondere Intensität der ATP hat natürlich zwangsläufig starke Anforderungen an die Versorgung der Niere mit oxydablen Nährsubstraten zur Folge, die bei der Resynthese der energiereichen Phosphatverbindungen verbraucht werden.

Die Enzymbefunde in der Niere und im Serum von Ratten, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt waren, geben keine eindeutige Klärung der Frage, ob es vorwiegend zu einer Störung der oxydativen Phosphorylierung oder der Kinetik der Glykolyse in der Niere kommt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

18 Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels, des Citronensäurecyklus und des Aminosäurestoffwechsels wurden in Niere und Serum gesunder Ratten und bei Ratten, bei denen experimentell eine infizierte Harnstauungsniere erzeugt worden war, bestimmt. Im einzelnen handelte es sich um die Enzyme: Glutaminsäure-Dehydrogenase (GSDH), Lactat-Dehydrogenase (LDH), Malat-Dehydrogenase (MDH), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT), Pyruvat-Kinase (PK), Isocitrat-Dehydrogenase (ICDH), Glycerinaldehyd-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH), Enolase (ENO), 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGDH), Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-PDH), Sorbit-Dehydrogenase (SODH), Alkohol-Dehydrogenase (ADH), 1-Phosphofructaldolase (PFA), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT), -Glycerophosphat-Dehydrogenase (GDH), Aldolase (ALD), Hexokinase (HK), Phosphoglycero-Kinase (PGK).

Die Aktivitätsmessungen wurden im optischen Test nach O. WARBURG durchgeführt.

Bei Ratten, die an infizierter Harnstauungsniere erkrankt sind, kommt es zu einer statistisch signifikanten Verminderung der Enzymaktivitäten in Nierengewebe und Serum folgender Enzyme: MDH; GOT; GAPDH; GDH; ALD; PGK;

Eine statistisch signifikante Abnahme nur im Nierengewebe der kranken Tiere zeigen die Aktivitäten der Enzyme GSDH; ICDH; ENO; SODH; ADH; PFA; GPT und HK.

Einen statistisch signifikanten Anstieg der Enzymaktivitäten im Nierengewebe kranker Tiere zeigen die Enzyme PK, 6-PGDH; G-6-PDH.

Herrn Priv. -Doz. Dr. Dr. MATOUSCHEK danke ich für die Überlassung des Themas. Sein Rat und seine Hilfe bei der Abfassung der Arbeit waren mir von großem Wert.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

ABDERHALDEN, R.: Klinische Enzymologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1958

AMELUNG, D., H. D. HORN und E. SCHRÖDER: Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Frage der Fermentelimination aus dem Serum.
Klin. Wschr. 36, 963-970 (1958)

AMELUNG, D.: Untersuchungen zur Größe der Eliminationsgeschwindigkeit von Fermenten aus dem Kaninchenserum.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 318, 219-228, (1960)

BAIER, H. und E. MÜHLER: Zur Frage der Serumaktivitätsänderung bei vegetativer Gesamtumschaltung.
Klin. Wschr. 37, 598 - 600 (1959)

BEISENHERZ, G., H. J. BOLTZE, Th. BÜCHER, R. CZOK, K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDT und G. PFLEIDERER: Diphosphofructaldolase, Phosphoglyceroaldehyd-Dehydrogenase und Pyruvat-Kinase aus Kaninchenmuskulatur in einem Arbeitsgang.
Z. Naturforschung 8b, 555-557 (1953)

BERGMEYER, H. U.: Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie GmbH. Weinheim/Bergstraße 1962

BRAUDE, A. J., A. P. SHAPIRO und J. SIEMIENSKY: Hematogenous Pyelonephritis in Rats.
J. clin. Invest. 34, 1489-1497 (1955)

BREUER, H.: Veränderungen der intracellulären Elektrolytkonzentrationen und des Energiestoffwechsels nach einseitiger Nephrektomie.
Z. ges. exp. Med. 131, 269-280 (1959)

BROD, J.: Die Nieren.
Verlag Volk und Gesundheit Berlin 1964

BRÜDIGAM, B. und K. W. SCHNEIDER: Klinische Untersuchungen zur Pathogenese der Fermentaktivitätserhöhungen der Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase und Aldolase im Serum.
Dtsch. Arch. klin. Med. 206, 438-458 (1960)

BRUNS, F.H.: Bestimmung und Eigenschaft der Serumaldolase. Biochem. Ztschr. 325, 156 - 162 (1954)

BRUNS, F.H., E. BROSSWITZ, H. DENNEMANN, H.D. HORN und E. NOLTMANN: Studien über die Ursachen des Enzymverlustes der geschädigten Zelle. Klin. Wschr. 39, 342-346 (1961)

BÜCHER, Th. und M. KLINGENBERG: Wege des Wasserstoffs in der lebenden Organisation. Angew. Chemie 70, 552 - 570 (1958)

BÜCHER, Th., E. SCHMIDT und F.W. SCHMIDT: Serum Patterns of Key-Pathway Enzymes. Read at the Ninth Middle East Assembly, May 8 - 10, (1959) American University of Beirut, Libanon.

CHINSKY, M. und S. SHERRY: Serum transaminase as a diagnostic aid. Arch. Int. Med. 99, 556-568 (1957)

COTRAN, R., L. THRUPP, S. HASS, D. ZANGWILL, E. VIVALDI und E. KASS: Retrograde E. coli pyelonephritis in the rat. J. Lab. Clin. med. 61, 987-1004 (1963)

DUBACH, C.W., und L. RECANT: Glomeruläre Fermente bei zwei verschiedenen Formen von Nephrose. Klin. Wschr. 40, 333-337 (1962)

DUNN, M., J. MARTINS und K.R. REISSMANN: The disappearance rate of GOT from the circulation and its distribution in the body's fluid compartments and secretions. J. Lab. Clin. Med. 51, 259-265 (1958)

DIXON, M. und E.C. WEBB: Enzymes. Longmans Verlag London 1964

ENGLHARDT-GÖLKEL, A., R. LÖBEL, W. SEITZ und I. WOLLER: Über das Verhalten und die Herkunft glykolytischer Serumenzyme beim Menschen und ihre diagnostische Bedeutung. Klin. Wschr. 36, 462-468 (1958)

EPPENDORF: Klinisch-chemische Untersuchungsmethoden mit dem Photometer "Eppendorf".

FELIENBERG, R., H. EPPENBERGER, R. RICHTERICH und H. AEBI: Das glykolytische Enzymmuster von Niere, Leber, Skeletmuskel, Herzmuskel und Großhirn bei Ratte und Maus. Biochem. Z. 336, 334-350 (1962)

FLECKENSTEIN, A.: Enzymregulation und Herzstoffwechsel aus Enzymatischen Regulationen in der Klinik. Vorträge des 6. Internationalen Kongresses für Innere Medizin
Benno Schwabe Verlag Basel 1960

FRANZ, H. E., M. FRANZ und R. KLUTHE: Enzymaktivitäten an isolierten Rattenglomerula bei Masugi-Nephritis.
Klin. Wschr. 40, 646-648 (1962)

GERLACH, U. und E. SCHÜRMEYER: Stoffwechseluntersuchungen bei experimenteller Nierenschädigung durch Dihydrotachysterin (A. T. 10)
Z. ges. exp. Med. 132, 295 - 305 (1959)

GERLACH, U. und E. SCHÜRMEYER: Enzymatik im Gewebe bei experimentellen Nierenschädigungen.
Z. ges. exp. Med. 132, 413-417 (1960)

GÖGGEL, H. K., G. HIERHOLZER und J. FREY/ Säurelösliche Phosphatverbindungen in der Mäuseniere bei verschiedener methodischer Aufarbeitung und unter dem Einfluß von Harnstoff.
Z. ges. exp. Med. 135, 41 - 50 (1961)

GUZE, L. B. und P. BEESON: Experimental Pyelonephritis. Effect of Ureteral Ligation on the Course of Bacterical Infection in the Kidney of the Rat.
J. Exp. Med. 104, 803-815 (1956)

HAGEMANN, I.; H. DUTZ, A. BIENENGRÄBER, W. STEFFEN und L. M. SCHULTZ: Der Verlauf der experimentellen Rattenpyelonephritis unter Behandlung mit Sulfonamiden.
Z. ges. exp. Med. 135 , 317-330 (1961/62)

HAUG, H. und A. KLUGE: Die Plasma/Serum - Enzymaktivitäten der LDH, MDH, GOT, GPT bei Neugeborenen und Erwachsenen.
Klin. Wschr. 43, 680-683 (1965)

HAUSS, W. H., I. H. LEPPELMANN und H. PLÄNITZ: Über die Schwankungen von Ferment Aktivitäten in der Leber bei experimentellen Eingriffen und bei Infektionskrankheiten.
Klin. Wschr. 35, 957-964 (1957)

HAUSS, W. H., U. GERLACH und E. SCHÜRMEYER: Über die Pathogenese und die klinische Bedeutung der Hyperfermentie.
Dtsch. med. Wschr. 83, 1310 - 1315 (1958)

HEFFTER, A.: Handbuch der experimentellen Pharmakologie. Bd. 4 Methodik der experimentellen Pyelitis und Pyelonephritis. S. 338 - 350. 1965 Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1965)

HENLEY, K.S., A. ARBOR, E. SCHMIDT und F.W. SCHMIDT: Serum Enzymes. J. Amer. Med. Ass. 173, 977-981 (1960)

HEPTINSTALL, R.H. und R. H. GORILL: Experimental Pyelonephritis and its Effect on the Blood Pressure. J. Path. Bact. 69, 191-198 (1955)

HESS, B. und E. GEHM: Über die Milchsäuredehydrogenase im menschlichen Serum. Klin. Wschr. 33, 91 - 93 (1955)

HESS, B. und R. RAFTOPOULO: Über Apfelsäuredehydrogenase im menschlichen Serum, im Liquor cerebro-spinalis und anderen Körperflüssigkeiten. Dtsch. Arch. klin. Med. 204, 97-106 (1957)

HESS, B.: Serumfermente als Indikatoren zellulärer Funktionen. Vortrag 1. Symposium der Med. Univ. Klinik München 1958

KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1962

KLAUS, D.: Renale Fermentausscheidung bei Proteinurie. Klin. Wschr. 36, 207-211 (1958)

LAUDAHN, G.: Fermentaktivitäten und Konzentrationen von Stoffwechselzwischenprodukten in Blut bei Leber und Herzkrankheiten. Klin. Wschr. 37, 850-858 (1959)

KRÜSKEMPER, H.L.: Aktivitätsänderungen von Milchsäure-Dehydrogenase, Aldolase, Glutaminsäuredehydrogenase der Leber normaler Ratten nach Behandlung mit Schilddrüsenhormonen und Cortison. Biochem. Z. 9, 213-226 (1958)

LEUTHARDT, F., E. TESTA und H. P. Wolf: Der enzymatische Abbau der Fructose-1-Phosphate in der Leber. Helvet. chem. acta 36, 227-251 (1953)

MALLORY, G. K.: Pathology of acute and of healed experimental pyelonephritis. Arch. Path. 30, 350-364 (1940)

MERTEN, R. und H. G. SOLBACH: Enzymverteilungsmuster des glykolytischen Systems und Citronensäurecyclus in Plasma Krebskranker. Klin. Wschr. 39, 222-232 (1961)

NAGANO, M., A. HEIDLAND, K. KLUTSCH und H. HOCHREIN: Enzymaktivitäten der Niere bei akuter experimenteller Hypokaliämie. Klin. Wschr. 41, 605-606 (1963)

NAGANO, M. und H. E. SCHÄFER: Methode zur Isolierung und Bestimmung von Enzymaktivitäten in Rattenglomerula. Klin. Wschr. 41, 1203-1207 (1963)

De NAVASQUEZ, S.: Experimental pyelonephritis in the rabbit produced by staphylococcal infection. J. Path. Bact. 62, 429-448 (1950)

OTTO, P., E. SCHMIDT und F. W. SCHMIDT: Enzymspiegel im Serum bei körperlicher Arbeit und ambulanten Patienten. Klin. Wschr. 42, 75-81 (1964)

PASSOW, H.: Passive Permeabilität durch Zellmembranen, Zur Frage der Penetration durch Poren. Klin. Wschr. 41, 130-138 (1963)

PEARSON, C. M.: Serum enzymes in muscular dystrophy and certain other muscular and neuromuscular diseases. N. England J. Med. 256, 1069-1076 (1957)

PFLEIDERER, G., D. JÄCKEL und B. HESS: Individuelle Milchsäure-Dehydrogenase bei verschiedenen Säugetieren. Biochem. Z. 329, 370-380 (1957)

PRAT, V., D. BENESOVA, L. PAVKOVA und F. CERVINKA: The Relationship of urinary Obstruction to the experimental chronic pyelonephritis in the rabbit. Acta med. scand. 165, 305 - 311 (1959)

RICHTERICH, R.: Enzympathologie. Springer Verlag Berlin 1958

RICHTERICH, R. und H. E. FRANZ: Enzymmuster des Energiestoffwechsels. Biochem. Ztschr. 334, 149-167 (1961)

SARRE, H.: Nierenkrankheiten. Physiologie, Pathophysiologie, Klinik und Therapie. Georg Thieme Verlag Stuttgart 1958

SCHLIEF, H. und P. KAMM: Die Aktivität der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Milchsäure-Dehydrogenase nach Herzoperationen. Klin. Wschr. 35, 1083-1084 (1957)

SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT und E. WILDHIRT: Vergleichende Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen und in der Rattenleber. Klin. Wschr. 36, 172-179 (1958)

SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT und E. WILDHIRT: Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels im menschlichen Serum und in Leberpunktaten bei Lebererkrankungen Klin. Wschr. 36, 227 - 234 und 280 - 287 (1958)

SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT: Über Enzym-Muster im Serum und in menschlichen Geweben. Europ. Symp. med. Enzymol., Milano (1960) 100-118 (Karger, Basel, New York 1961)

SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT: Methode und Wert der Bestimmung der Glutaminsäure-Dehydrogenase-Aktivität im Serum. Klin. Wschr. 40, 962-969 (1962)

SCHMIDT, E. und F. W. SCHMIDT: Enzymbestimmungen im Serum bei Lebererkrankungen. Enzymol. biol. clin. 3, 1-52, 73-80, 80-86 (1963)

SÖLING, H. D. und L. SCHMIDT: Vergleichende Untersuchungen des Sauerstoffverbrauchs und der Bearbeitung von Glucose, Milchsäure und Brenztraubensäure im Stoffwechsel der Hundeniere. Nau. Schmied. Arch. exp. Path. Pharm. 240 140-156 (1960)

SPITZNAGEL, J. K. und H. SCHROEDER: Experimental Pyelonephritis and Hypertension in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77, 762-764 (1951)

STAVE, U.: Glykolyseenzyme in Leber, Niere und Serum während der ersten Lebensmonate. Biol. neonat. 2, 18 - 33 (1960)

WARBURG, O. und W. CHRISTIAN: Gärungsfermente im Blutserum von Tumor-Ratten. Biochem. Ztschr. 314, 399-408 (1943)

WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik. Gustav Fischer Verlag Jena 1964

WEST, M. und H.J. ZIMMERMANN: Serum Enzymes in diseases LDH und GOT levels in renal disease. J. Lab. Clin. Med. 52 185-195 (1958)

WIEBELHAUS, V. D. und H. A. LARDY: Phosphorylation of hexoses by brain Hexokinase. Arch. Biol. 21, 321-329 (1949)

WROBLEWSKI, F. und J. S. La DUE: Lactic Dehydrogenase Activity in Blood. Proc. Soc. Exp. Biol. 90, 210-213 (1955)

WROBLEWSKI, F. und J. S. La DUE: Serum glutamatic pyruvic transaminase (SGP -T) in hepatic disease. Ann. inter. Med. 45. 801-811 (1956)

LEBENSLAUF

Am 31.3.1935 wurde ich als Tochter des Ersten Staatsanwalts Dr. Hans Hänel und seiner Frau Käthe, geb. Schubert in Landsberg O.S. geboren. Mein Vater ist 1941 in Rußland gefallen.

Die Volksschule besuchte ich in Oels/Schles., danach die Oberrealschule in Weilheim und die Gisela-Oberrealschule in München. Dort legte ich 1955 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1955 begann ich an der Universität München das Medizinstudium. Das Physikum bestand ich hier im Frühjahr 1958. Im Wintersemester 1958/59 studierte ich an der Universität Hamburg. Danach studierte ich wieder an der Universität München. 1962 legte ich hier das Staatsexamen ab.

Seit 1962 bin ich mit dem Dipl. ing. arch. Paul Schroeder verheiratet.

Von 1963 - 1965 arbeitete ich als Medizinalassistentin an verschiedenen Kliniken in München.

Die Bestallung als Arzt wurde mir mit Geltung ab 30. September 1965 erteilt.